Ano 2021

Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua
(Organizador)

Ano 2021

Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua
(Organizador)

Ano 2021

Ano 2021

Ano 2021

Ano 2021

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Trabalhos nas áreas de fronteira da química

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Vanessa Mottin de Oliveira Batista
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T758 Trabalhos nas áreas de fronteira da química / Organizador Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5706-824-3
DOI 10.22533/at.ed.243212202

1. Química. I. Paniagua, Cleiseano Emanuel da Silva (Organizador). II. Título.

CDD 540

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

Ano 2021

APRESENTAÇÃO

O E-book intitulado: “Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química”, constituído por dezesseis trabalhos em forma de capítulos, promovem a apresentação e discussão cientifica de forma intra e interdisciplinar, que convergem para uma mesma problemática: melhoria na qualidade e expectativa de vida da sociedade. Esta coleção apresenta trabalhos que proporcionam: (*i*) melhorar e aperfeiçoar a relação ensino aprendizagem em diferentes níveis de ensino, possibilitando o aprofundamento da compreensão da relação homem e meio-ambiente, por meio do desenvolvimento de uma consciência que coloque o homem como parte integrante do meio; (*ii*) desenvolvimento de novos materiais com potencialidades de melhorar ou inovar suas aplicações nos diferentes seguimentos da sociedade, despertando a mudança da visão extrativista e fortalecendo a que seja capaz de reduzir impactos ao meio ambiente; (*iii*) uso da biotecnologia tanto no setor de saúde quanto no de alimentos que buscam aprimorar ou desenvolver novas aplicações; (*iv*) aplicação e potencialidades do uso de biomassa de resíduos e rejeitos gerados por atividades agroindustriais, possibilitando a incorporação destes como matéria-prima para aplicações em diferentes produtos, diminuindo o impacto gerado na extração de matérias-primas do ambiente que contribui para a preservação de recursos naturais para as gerações vindouras e (*v*) estudo de novas substâncias potencialmente capazes de melhorar ou desenvolver processos clínicos, tanto do ponto de vista de resolução de imagens em exames quanto de processos terapêuticos, possibilitando maior acessibilidade e disponibilidade a sociedade.

Neste sentido e com o intuito de colaborar para a disseminação destas e de outras informações que levem a despertar uma maior consciência da relação do homem e do meio ambiente, a Atena Editora lança o volume I do E-book “Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química”.

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

ABORDANDO A IMPORTÂNCIA DA RECICLAGEM E DA COMPOSTAGEM NA PERSPECTIVA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, SOCIEDADE E AMBIENTE (CTSA)

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 07/12/2020

Estefano Poletto da Silva
Universidade Federal do Paraná
Educação em Ciências
Curitiba – Paraná
http://lattes.cnpq.br/6815392575672642

Joanez Aires
Universidade Federal do Paraná
Departamento de Química - EDUQUIM
Curitiba – Paraná
http://lattes.cnpq.br/2765027179294331

RESUMO: Um dos objetivos da Educação Ambiental é possibilitar que estudantes tomem decisões sustentáveis envolvendo a Ciência, a Tecnologia, a Sociedade e o Ambiente (CTSA). Então, os alunos precisam, além de entender seus impactos ambientais, compreender a realidade dos resíduos sólidos e as inter-relações entre Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente, promovendo a Educação para a cidadania. Atividades envolvendo CTSA tem potencial para facilitar o entendimento dos conteúdos científicos e o papel do cidadão em uma sociedade democrática. Em função disso, o objetivo desta pesquisa foi analisar como a reciclagem, compostagem, geração, consumo e descarte de resíduos possibilitam reflexões sobre Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente. Para isto, foi realizada uma pesquisa no 1º Festival UFPR de Ciência, Cultura e Inovação durante uma intervenção com a temática dos resíduos sólidos. Os dados foram constituídos através de 12 questionários. Os resultados indicam que todos os participantes avançaram no entendimento sobre Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente. Além disso, foram discutidas diversas problematizações realizadas pelos alunos nos questionários. Em relação à Educação CTSA, foi possível perceber que a proposta estimulou os alunos a investigações, desenvolverem projetos e tenham experiências para exercer cidadania em uma sociedade democrática.

PALAVRAS-CHAVE: Educação em Ciências. Educação Ambiental. Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente. Resíduos sólidos.

ADDRESSING THE IMPORTANCE OF RECYCLING AND COMPOSTING FROM THE SCIENCE, TECHNOLOGY, SOCIETY AND ENVIRONMENT (STSE) PERSPECTIVE

ABSTRACT: One of the objectives of the teaching and Education of Sciences is to enable students to make democratic decisions involving Science, Technology, Society and Environment (STSE). Therefore, students need to understand the scientific contents, the interrelationships between Science, Technology, Society, Environment and Citizenship Education. Activities involving STSE have the potential to improve understanding the science as human construction. So, the objective of this research was analyze how the Solid Waste of Curitiba theme can make reflections on STSE. For this, a class was conducted at the 1st UFPR Festival of Science, Culture and Innovation during an intervention with the theme of Solid waste of

Curitiba. The data were constituted by twelve questionnaires. The results indicate that all participants advanced their understandings of STSE. In addition, several problematizations performed by the students in the questionnaires were discussed. Regarding STSE Education, it was noticed that the proposal stimulated students to do investigations, develop projects and have experiences to exercise citizenship a democratic society.
KEYWORDS: Science Education. Environmental Education. Science, Technology, Society and Environment. Solid waste.

1 I INTRODUÇÃO

De acordo com a Prefeitura Municipal de Curitiba (2017), em 1881, a disposição final dos resíduos em Curitiba ocorria em um terreno vago, onde hoje se localiza o clube Círculo Militar do Paraná. A partir dos anos finais do século XIX o despejo de lixo em vias públicas foi proibido na cidade e a partir de 1930 o lixo doméstico era recolhido por um caminhão apropriado (CURITIBA, 2017).

Segundo o IBGE, em 2003 a população de Curitiba era de 1.634.999 pessoas, no último censo (2010) foi de 1.751.907 pessoas e a população estimada em 2020 consiste aproximadamente de 1.948.626 pessoas. Com o crescimento populacional, a demanda social resultou em um plano de coleta e transporte integrado para o descarte de resíduos, além do mais foram desenvolvidos projetos, campanhas e estações de sustentabilidade para complementar as necessidades na gestão de resíduos, a primeira estação inaugurada só em 2014.

Tendo em vista a situação do aumento populacional, da quantidade de resíduos, a necessidade de informar a população e a possibilidade de reflexões das relações entre CTSA, se fez necessário realizar uma intervenção e discutir sobre reciclagem, compostagem, geração, consumo e descarte de resíduos da cidade de Curitiba.

As discussões sobre Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente (CTSA) estão intimamente ligadas à Educação em Ciências e a formação de cidadãos críticos e ativos socialmente (FREIRE, 1987). Portanto ao discutir sobre reciclagem, compostagem, geração, consumo e descarte de resíduos, existe uma vinculação entre a Educação para a cidadania e CTSA, o conteúdo deve possibilitar ao aluno discutir as questões dos resíduos e permitir que ele tome decisões conscientes sobre a temática. Uma maneira de reciclar matéria orgânica é produzir fertilizante caseiro (húmus).

De acordo com a Prefeitura Municipal de Curitiba (2017) a matéria orgânica corresponde a 37,73% da composição gravimétrica dos resíduos gerados em Curitiba. A compostagem trata-se de um processo natural de decomposição biológica de materiais de origem animal e vegetal, através da ação de microorganismos. Essa técnica pode reduzir consideravelmente o descarte do lixo orgânico produzido em casa, além disso, o processo ainda reduz a exploração de recursos naturais, uma vez que os substratos e compostos orgânicos substituem adubos químicos e reduz as emissões de gases associadas à

fabricação desses adubos.

Atualmente é possível observar uma necessidade contemporânea para a produção de bens de consumo, com isso, ocorre um aumento da geração de resíduos que serão descartados no meio ambiente. O cenário atual se destaca pelo consumo dos recursos naturais, seja devido ao crescimento da população, pelos avanços da ciência e a expansão da indústria.

Embora seja notório um desenvolvimento nos últimos 20 anos com o destino dos resíduos sólidos no país, o atual cenário de destinação ainda é considerado inadequado e exige soluções estruturais no setor para que se cumpra o que estabelece a Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010, também conhecida como Lei Nacional de Resíduos Sólidos, que previa a eliminação de lixões do Território Nacional até o ano de 2014. Contudo, independente das potenciais soluções, será necessário uma mudança social, econômica e cultural da sociedade em relação ao tema (IBGE, 2008).

Por isso foi relevante que sejam conhecidas os componentes que são formados a partir da reciclagem da matéria orgânica (compostagem) e como podemos participar ativamente da temática. Assim, o objetivo geral deste estudo foi analisar como a reciclagem, compostagem, a geração, o consumo e o descarte de resíduos possibilitam reflexões sobre Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente. Para tal, os objetivos específicos são:

a. Caracterizar as discussões teóricas acerca dos resíduos sólidos de Curitiba e as relações CTSA;

b. Desenvolver um projeto de Intervenção sobre reciclagem e compostagem durante a Semana Integrada de Ensino Pesquisa e Extensão (SIEPE) – no 1º Festival UFPR de Ciência, Cultura e Inovação;

c. Entender como os participantes relacionaram durante a intervenção as questões dos resíduos sólidos com os aspectos CTSA; e

d. Discutir a relevância da temática para o Ensino e Educação em Ciências.

Para alcançar o objetivo geral da pesquisa foi desenvolvida uma pesquisa qualitativa para entender como a reciclagem, a compostagem, a geração, consumo e descarte de resíduos podem possibilitar reflexões sobre CTSA. Os questionários foram respondidos após uma atividade de intervenção no 1º Festival UFPR de Ciência, Cultura e Inovação, realizada no dia 26 de setembro de 2019 em Curitiba.

De modo a alcançar os objetivos descritos, este trabalho foi organizado em cinco tópicos. No tópico dois, para permitir uma compreensão sobre a relação da temática e os aspectos CTSA, foi elaborado considerações sobre os conteúdos e a temática. O tópico três é sobre a metodologia de pesquisa, onde justificamos e descrevemos os métodos utilizados para constituir e analisar os dados. No tópico quatro apresentamos as análises dos resultados da intervenção. Foi discutido como os aspectos CTSA são compreendidos

pelos participantes da intervenção e a relevância das discussões para a Educação em Ciências. Finalmente apresentamos as considerações finais.

2 I CONSIDERAÇÕES SOBRE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, SOCIEDADE E AMBIENTE

Neste tópico foi discutido como a temática dos resíduos sólidos de Curitiba está inter-relacionada com aspectos científicos, tecnológicos, sociais e ambientais que permitem uma melhor compreensão dos conteúdos e do tema social.

A proposta busca integrar o indivíduo ao meio social de forma a refletir sobre o mundo tecnológico e a possibilidade de compreensão e ação em relação à temática. O ensino CTSA está vinculado à realidade histórica do seu meio tecnológico e científico. De acordo com Santos e Schnetzler (2014, p. 72) "só são denominados cursos de CTS aqueles cujo conteúdo inter-relacione os diferentes componentes relativos à ciência, tecnologia e sociedade [...].". Posteriormente surgiu a denominação CTSA, visando objetivar explicitamente as questões ambientais.

Dentro da caracterização CTSA, a Tabela 1 apresenta os principais aspectos de CTSA e o estudo da temática, levando em consideração a inter-relação da natureza da ciência, da tecnologia, da sociedade e do ambiente.

Aspectos CTSA	Exemplos sobre a temática resíduos sólidos de Curitiba
1. Natureza da Ciência	No processo de decomposição em compostagem ocorre a formação de CO_2, H_2O e biomassa (húmus).
2. Natureza da Tecnologia	A compostagem é uma maneira de diminuir a quantidade de resíduos orgânicos para descarte.
3. Natureza da Sociedade	As pessoas não precisam gerar, consumir e descartar tantos resíduos, é possível usar e reutilizar com responsabilidade.
4. Ambiente	A compostagem evita a geração de gás metano, chorume tóxico e produz um fertilizante de forma natural e gratuita.
5. Efeito da Ciência sobre a Tecnologia	A ciência proporciona a compreensão sobre os compostos formados na composteira caseira e sua utilização em hortas residenciais.
6. Efeito da Tecnologia sobre o Ambiente	Com a compostagem a quantidade do descarte de resíduos orgânicos irá diminuir e essa ação pode minimizar significativamente o impacto ambiental.
7. Efeito do Ambiente sobre a Sociedade	O descarte incorreto, o acumulo do lixo, a proliferação de mosquitos e doenças prejudicam as pessoas que trabalham com o lixo como fonte de renda e alimento.
8. Efeito da Tecnologia sobre a Sociedade	Após a proibição do descarte de resíduos em vias públicas, a coleta começou a ser realizada por um caminhão apropriado.
9. Efeito da Sociedade sobre o Ambiente	Por produzir sacolas descartáveis a base de um material praticamente indestrutível, a tendência de acumulo de lixo, a proliferação de insetos e doenças aumentou drasticamente.

10. Efeito da Sociedade sobre a Ciência	Para um trabalho mais eficiente é importante conhecer as lacunas, os desafios e as motivações das pessoas que atuam na reciclagem de resíduos. Esses conhecimentos buscam aperfeiçoar a coleta seletiva.
11. Efeito do Ambiente sobre a Ciência	O acumulo do lixo, a geração de gás metano e do chorume tóxico resultou em uma necessidade de conhecimento e pesquisas sobre a reciclagem de resíduos.
12. Efeito da Ciência sobre a Sociedade	O conhecimento sobre os componentes formados durante o descarte de resíduos leva as pessoas a desenvolverem estratégias para participar ativamente da solução do problema e reduzir seu impacto ambiental. Um exemplo prático é a reciclagem da matéria orgânica pela técnica de compostagem caseira.
13. Efeito da Sociedade sobre a Tecnologia	É importante se preocupar com o destino dos resíduos, reduzir o volume de resíduos ajuda no controle e no processo de reciclagem.
14. Efeito da Tecnologia sobre a Ciência	O uso da composteira caseira diminui consideravelmente a quantidade de resíduos orgânicos que seria descartado.
15. Efeito da Ciência sobre o Ambiente	O conhecimento das técnicas de reciclagem e compostagem podem reduzir consideravelmente a quantidade de resíduos que são descartados incorretamente.
16. Efeito do Ambiente sobre a Tecnologia	O aumento populacional e da quantidade de resíduos fez com que despejo de lixo em vias públicas fosse proibido e o lixo doméstico começou a ser recolhido por um caminhão apropriado.

Tabela 1: Aspectos da abordagem de CTSA e exemplo sobre os resíduos e reciclagem.

FONTE: McKavanagh e Maher, 1982, p. 72 [modificação nossa].

Para estruturar a abordagem de forma que contemple os fenômenos sociais e tecnológicos, Aikenhead (1990) indica uma sequência que foi adotada nesse projeto. *1. Uma questão social é introduzida; 2. Uma tecnologia relacionada ao tema social é analisada; 3. O conteúdo científico é definido em função do tema social e da tecnologia introduzida; 4. A tecnologia correlata é estudada em função do conteúdo apresentado; 5. A questão social original é novamente discutida.*

De forma a produzir uma instrução ao professor e ao aluno, a temática: *Reciclagem, compostagem, resíduos s*ólidos Cu*ritiba e a Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente (CTSA)*, foi sintetizada na Tabela 2:

Estrutura	Considerações
1. Questão social introduzida	Em sua casa, qual é o destino do lixo orgânico produzido?
2. Tecnologia relacionada ao tema social	A compostagem caseira é uma forma de diminuir o descarte de resíduos orgânicos e reutilizar a matéria orgânica produzida em sua casa.
3. O conteúdo científico	A respiração aeróbica é aquela que precisa de oxigênio como aceptor final. A respiração anaeróbica, por sua vez, não utiliza oxigênio no processo. No processo de decomposição aeróbica em compostagem ocorre a formação de CO_2, H_2O e biomassa (húmus); A maior dificuldade de reciclar o material orgânico se deve ao fato de diversas outras substâncias contaminarem o material em decomposição. Substâncias ácidas modificam o pH do húmus formado no processo de decomposição, perdendo sua capacidade fertilizante.
4. A tecnologia correlata é estudada em função do conteúdo apresentado,	A compostagem é uma maneira de participar ativamente da diminuição do descarte de resíduos orgânicos, bem como, uma opção para o reaproveitamento da matéria orgânica.
5. A questão social é novamente discutida.	Em sua casa, quais podem ser os destinos do lixo orgânico produzido?

Tabela 2: Sequência da estrutura dos materiais CTSA.

FONTE: Aikenhead, 1990, p. 12 [modificação nossa].

O processo de decomposição aeróbica de matéria orgânica ocorre por ação de agentes biológicos microbianos na presença de oxigênio e, portanto, precisa de condições físicas e químicas adequadas para levar à formação de um produto de boa qualidade.

Pensando nas discussões acerca do enfoque CTSA, é importante que os educadores reflitam sobre que cidadãos se pretendem formar por meio das propostas CTSA. Então esta temática busca refletir sobre as consequências do descarte de Resíduos e a qualidade de vida da população, uma visão crítica sobre a tecnologia e que aproximem cidadãos, alunos, professores e cientistas para integração e resolução de problemas (SANTOS; MORTIMER, 2000; FREIRE, 1987).

3 I METODOLOGIA

Para responder a seguinte questão: *Como a temática reciclagem, compostagem e resíduos s*ólidos podem possibilitar *reflexões sobre CTSA?* Foi realizada uma pesquisa qualitativa para entender como os participantes do 1º Festival UFPR de Ciência, Cultura e Inovação assimilavam os conteúdos inseridos na temática dos resíduos sólidos e as relações CTSA.

Para a análise dos dados se buscou explicitar os sentidos e os significados dos textos construídos, esse estilo metodológico foi elaborado, principalmente, por Roque Moraes e Maria do Carmo Galiazzi no livro *Análise Textual Discursiva*. Tais análises geralmente são usadas em pesquisas qualitativas com o objetivo de entender o fenômeno de estudo,

construindo conhecimentos sobre o assunto investigado (MORAES, GALIAZZI, 2007).

Segundo Souza e Kerbauy (2017), a realidade pode de ser compreendida de diferentes formas e maneiras dependendo do referencial teórico e metodológico adotado. O plano adotado neste trabalho começa com um estudo da realidade da reciclagem, compostagem e dos resíduos sólidos de Curitiba, seguida de uma Intervenção no 1º Festival UFPR de Ciência, Cultura e Inovação, e finalizada com a análise qualitativa e aprofundada dos dados obtidos através de questionários.

Dessa maneira, foi necessário ir a campo e desenvolver uma atividade com o público do festival da UFPR. Participaram das atividades sete estudantes, nove professores, um servidor e um empresário. A identificação dos participantes está descrita na Tabela 3:

Código	Profissão	Idade	Formação	Nível de atuação
E1	Estudante	22	Licenciatura em música	Sexto período
E2	Empresário, programador e estudante	22	Engenharia elétrica	Oitavo período
E3	Estudante	22	Engenharia de bioprocessos e biotecnologia	Sexto período
E4	Estudante	25	Engenharia mecânica	Bolsista de extensão área tecnológica
E5	Estudante/Estagiário	25	Bacharelado em música	Estagiário PROTEC/ COC
E6	Estudante e músico	29	Direito	Estudante
E7	N/I	N/I	N/I	N/I
G1	Professor	30	Pedagogia	Ensino Fundamental
	Professor	31	Química	Técnico e Superior
	Professora	48	Ciências/Mat	Ensino Fundamental e Ensino Médio
	Professor	56	Física	EBTT
G2	Professoras	28 – 39	Pedagogia	Ensino Médio, Ensino Fundamental I e II
	Professoras	28 – 39	Biomedicina	
	Professoras	28 – 39	Biologia	
	Professoras	28 – 39	Farmácia	
O1	Oceanógrafa	26	Oceanografia	Aprendiz
P1	Professora	44	Doutorado	Ensino Superior
S1	Servidor	40	Comex	UFPR – Servidor

Tabela 3: Identificação dos participantes.

FONTE: O autor (2020).

Primeiramente foi realizada uma apresentação sobre a realidade da geração, consumo e descarte dos resíduos sólidos de Curitiba, a técnica da compostagem é

desenvolvida como uma maneira de participar ativamente da diminuição do descarte de resíduos orgânicos.

Após a apresentação foi proposto, para cada participante ou grupo de participantes, um questionário sobre geração de resíduos, um questionário sobre o consumo/consumismo de resíduos, um questionário sobre o descarte de resíduos e uma situação de vulnerabilidade social. As problematizações estão sintetizadas na Tabela 4:

Geração de resíduos	Realmente é necessário produzir tantos produtos? Além de descartar um produto antigo, há possibilidade de distribuir para outros lugares que poderiam aproveitar mais desse material? Quais suas propostas para solucionar essas questões?
Consumo/ consumismo de resíduos	Pode-se observar que os resíduos domiciliares apresentam uma dimensão social importante para reflexão no Ensino e Educação. Quando vamos comprar algo, sempre o produto está disponível em perfeito estado de conservação. Por que quando vou descartar algo eu devolvo o material sem me preocupar qual será o seu destino? Reduzir o volume desse material pode ajudar na reciclagem? Outras pessoas ainda podem consumir desses produtos?
Descarte de resíduos	Com a redução de 26% da frota, quais foram os destinos desses trabalhadores que atuavam na frota antiga? Eles continuam trabalhando com coleta de descarte de resíduos? Por que foi necessária uma nova frota de caminhões? Qual seria sua sugestão para intervir nessa situação?
Situação de vulnerabilidade social	A demanda social pela reciclagem é considerada uma das principais soluções para o descarte de resíduos (IBGE, 2008). Portanto devemos refletir no Ensino e Educação sobre o papel dos catadores no processo de reciclagem, será que a dificuldade de se trabalhar com a reciclagem está nas condições de trabalho? Quais são as garantias de segurança do trabalho na atividade dos catadores? Quais suas propostas para solucionar essas questões?

Tabela 4: Perguntas aos grupos que participaram da intervenção.

FONTE: O autor (2020).

No próximo tópico apresentamos as respostas dos participantes, as relações que foram estabelecidas os metatextos desenvolvidos pelo pesquisador. Articuladamente explicamos as compreensões das análises e considerações construídas a partir do processo de ATD.

4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após P1, E1 e E2 responderem as problematizações sobre geração de resíduos, E3, S1 e G1 sobre consumo/consumismo, E4, E5 e G2 sobre descarte e O1, E6 e E7 sobre vulnerabilidade social, chegamos ao ‘corpus’ constituído por doze textos, identificados na Tabela 5.

Código	Respostas transcritas
P1	Acho que **não é necessário produzir tantos resíduos**, seria melhor realmente poder distribuir este material, ou melhor, reaproveita-los. Talvez mais pontos de descarte oficiais. Nas cidades pequenas e bairros também.
E1	**Campanhas de conscientização de caráter público.** Unidades e centro de reciclagem presentes nos bairros, de fácil acesso e certa praticidade.
E2	Todos os produtos tem um prazo de validade, porém nos últimos tempos **este prazo está menor, isso se deve a obsolecência programada**, assim na visão de um empresário é necessário que sempre venda-se produtos, se não o seu lucro irá cair, porém para a população, a geração destes produtos descartados não é benéfica, e com o aumento da tecnologia estes produtos acabam não podendo ser reaproveitados por outras pessoas, na minha visão é necessário na parte de tecnologia que haja maior desenvolvimento de software do que de hardware, **e na parte de alimentos é necessária a conscientização, e selecionar produtos que tenham menos embalagens.**
E4	Porque acaba sendo **mais cômodo as pessoas descartarem o lixo sem preocupação. Reduzir o volume do material** ou utilizar materiais de mais fácil processamento para reciclagem **ajudaria na reciclagem** geral de produtos domésticos. Em relação à produtos que foram pro lixo, muitos deles não são recicláveis. **A solução seria a criação de programas para orientação da reciclagem dos materiais. Outra é o investimento em materiais ecológicos de fácil processamento para a reciclagem.**
S1	**Consumo consciente de produtos com embalagens recicláveis** de forma que não se misturem no lixo comum. **Descarte de embalagens nos dias de coleta.** **Estimular a não utilização de sacolas.**
G1	**Os produtos consumidos hoje tem a mesma durabilidade do passado?**
E3	Provavelmente o **destino foi o desemprego**, ou seja, não continuaram trabalhando com coleta ou descarte. **Uma nova frota foi para a redução de custos. Sugestão de novos cargos.**
E5	Acredito que **com a redução da frota muitos desses funcionários ficaram desempregados** e acabaram procurando algum outro emprego em áreas diversas. A respeito da nova frota de caminhões, penso que houve um interesse muito maior no âmbito financeiro do que do social, pois as empresas que fabricam esses caminhões terão uma grande demanda e com isso, mais lucro. A curto prazo, acredito que **seria interessante a divulgação dessas informações e rodas de conversa para entender os impactos gerados** por essa nova interação e o que pode ser feito a respeito disso.
G2	O **que essa redução impactou na Economia e em Programas** de melhoria para a população? Quais os **impactos dessa redução na Empresa?** **O acúmulo de lixo pode ser ocasionado pela redução da frota? E quais os impactos na reciclagem referente** à **essa "demora"?**
O1	Eu acho que uma **solução** favorável para os **resíduos e o trabalho dos catadores de lixo seria a separação de lixeiras específicos**, em cada quarteirão a cada 300 metros, onde em uma só seria despejado resíduos recicláveis e na outra resíduos orgânicos. E dessa forma **os catadores poderiam processar materiais recicláveis no lugar certo e a quantidade de lixo que os lixeiros pegariam iria diminuir. É importante que o lixo comum não seja recolhido igual ao reciclável, para que diminua a quantidade de lixo nos aterros sanitários.**
E6	Penso que primeiro, **o direito do trabalhador deveria reconhecer esses trabalhadores como titulares de direito e regular seu trabalho**, é primordial que o estado garanta os direitos constitucionais e os principais fundamentos, a dignidade da pessoa humana. **Levar essa discussão para as escolas e compreender a rotina e as condições desses trabalhadores,** como a pesquisa diz "estão marginalizados". **Reconhecer legalmente e tutela esses trabalhadores** me parece o mais cabível

E7	**Por que há essa marginalização dos profissionais da reciclagem, se eles são fundamentais** (são os agentes principais e primários) no processo de reciclagem? Será que o **ideal não seria demonstrar a importância desse trabalho** e valorizar estas pessoas?

Tabela 5: Respostas dos questionários utilizados na intervenção.

FONTE: O autor (2020), grifo nosso.

Para analisar como a temática pode possibilitar reflexões sobre Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente, primeiramente buscou-se identificar nos questionários se as inter-relações entre CTSA estavam presentes nas respostas dos participantes.

Todos os questionários analisados apresentaram respostas que inter-relacionam aspectos CTSA. Este é um dado bastante positivo, pois indica que todos os participantes avançaram no entendimento CTSA. Na sequência estão os metatextos desenvolvidos a partir das respostas construídas pelos participantes na intervenção.

Em P1, o professor entendeu que não é necessário produzir tantos resíduos, as pessoas podem contribuir controlando e modificando estes materiais, que podem ser distribuídos, ou melhor, reaproveitados. E1 entende que para conscientizar as pessoas sobre a questão da geração de resíduos são necessários campanhas, unidades e centros de reciclagem nos bairros. Já o E2, entende que esta questão é problemática devido ao prazo de validade dos produtos e à ambição de empresários que não querem observar seus lucros diminuírem.

Para o E3 as pessoas geralmente não se preocupam com o destino do próprio lixo, mas que, ao reduzirem o volume de resíduos poderiam ajudar no processo de reciclagem. Para ajudar no problema o estudante entende que as pessoas poderiam desenvolver programas para orientar a população em como ajudar na reciclagem dos resíduos. Outra proposta é investir, controlar e modificar materiais para facilitar a reciclagem.

Segundo o S1, a sociedade deve agir ativamente na questão dos resíduos, consumir produtos com embalagens recicláveis, descartar os resíduos nos dias corretos e estimular a não utilização de sacolas plásticas, resíduo correspondente à cerca de 1,5 milhões de sacolinhas que são distribuídas no Brasil por hora, de acordo com o ministério do meio ambiente em 2018.

Em E4, o estudante entende que a redução da frota de caminhões reduz custos e pode afetar diretamente os trabalhadores na coleta de resíduos. O estudante sugere novos cargos para esses trabalhadores continuarem atuando com o descarte de resíduos. O E5 concorda com o E4 e discute que com a nova frota de caminhões os trabalhadores acabaram tendo que procurar empregos em áreas diversas. O estudante ainda considera interessante divulgar e discutir as questões propostas na intervenção para entender os impactos e o que podemos fazer a respeito.

Já o E6 entende que a questão dos catadores é um direito social do trabalhador, o

estado deve garantir os direitos constitucionais e os principais fundamentos, a dignidade da pessoa humana. Para entender melhor as discussões o estudante considera importante levar as discussões para as escolas, estudar a rotina e as condições desses trabalhadores para conhecer melhor a realidade.

O estudante 7 não se identificou, mas as problematizações foram bem elaboradas. Para entender, por que há essa marginalização dos catadores? Preferimos recorrer ao que está comentado no Plano de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos (2017) sobre a imagem dos catadores:

> Imagem negativa do catador perante a população, provocada por conflitos no trânsito, manuseio inadequado de resíduos (materiais espalhados nas calçadas), e por vezes sendo o catador indiretamente vinculado à marginalidade (CURITIBA, 2017, p.78).

O Plano de Gestão (2017) lista diversas carências e deficiências na gestão de resíduos de Curitiba. Entre elas estão o número insuficiente de cooperativas e associações de catadores em condições de se inserir na cadeia da reciclagem e o índice de rejeito na separação da coleta seletiva. Ainda existem questões sociais relacionadas à variação do número de catadores devido à sazonalidade dos preços dos materiais e os chamados pontos de classificação, onde os materiais são recolhidos de forma improvisada em praças e calçadas.

Sobre demonstrar a importância do trabalho dessas pessoas é importante conhecer melhor quais são os desafios, as lacunas e motivações que catadores enfrentam diariamente no processo de reciclagem. Ainda assim, são necessários mais estudos e participação dessas pessoas para construir conhecimentos mais elaborados sobre o assunto.

Mesmo que o objetivo da Educação não seja exclusivamente de alterar as visões dos alunos sobre Ciência, Tecnologia e Sociedade. O Ensino e Educação devem ser capazes de proporcionar uma visão mais elaborada sobre as relações dos pressupostos CTSA. Consequentemente é necessário que alunos e professores participem de reflexões e atividades que promovam e facilitem a construção de saberes para a atividade de uma cidadania crítica e transformadora (SANTOS; MORTIMER, 2000; FREIRE, 1987).

5 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa teve como pressuposto que a Educação em Ciências deve possibilitar a formação de cidadãos críticos e participativos em sociedade. Para tanto, os estudantes devem, além de entender os conteúdos científicos, compreender as relações CTSA e suas influências em uma sociedade democrática. Consideramos que atividades no enfoque CTSA tem potencial para facilitar o entendimento dos conceitos científicos e a Educação para a cidadania (FREIRE, 1987).

Assim, a questão orientadora da pesquisa foi: *Como a reciclagem, a compostagem e*

*os resíduos s*ólidos de Curitiba pode*m possibilitar reflexões sobre CTSA?* E para responder a questão, tivemos quatro objetivos específicos discutidos anteriormente na introdução.

O primeiro objetivo específico (caracterizar as discussões teóricas) foi discutido no tópico dois, em que exploramos os aspectos científicos, tecnológicos, sociais e ambientais da temática dos Resíduos Sólidos. Existe vinculação entre a Educação para a cidadania e a Educação CTSA, a temática considera a inter-relação da natureza da ciência, da tecnologia, da sociedade e do ambiente de McKavanagh e Maher (1982). Articuladamente os alunos no processo são estimulados a resolverem problemas, fazer investigações e desenvolver projetos.

No tópico três, alcançamos o segundo objetivo específico (desenvolver a intervenção), em que explicamos a atividade desenvolvida no 1º Festival de Ciência, Cultura e Inovação da UFPR, a metodologia da pesquisa, as problematizações construídas, a constituição dos dados e da análise dos mesmos. Participaram da intervenção sete estudantes, nove professores, um servidor e um empresário, e o 'corpus' foi constituído por doze respostas.

Atingimos o terceiro objetivo específico (entender a relação dos participantes com o enfoque CTSA) ao analisar as respostas dos participantes. Identificamos aspectos CTSA em todas as respostas, o que é positivo, pois as propostas CTSA devem inter-relacionar os aspectos relativos à Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente. Para desenvolver a proposta foi importante que alunos e professores participem de forma dialética e transformadora (FREIRE, 1987). No entanto, tal processo demanda de recursos, formação, dedicação e entusiasmo dos envolvidos.

O quarto objetivo específico começou a ser atingido a partir da introdução da pesquisa. Entendemos que a Educação CTSA contribuiu para que os participantes desenvolvam habilidades e atitudes necessárias à tomada de decisão consciente com o descarte de Resíduos. Então a atividade proporciona aos alunos e professores uma compreensão mais elaborada sobre a influência das ações em uma sociedade democrática.

A realização desta pesquisa foi compreendida como um processo de permanente aprendizado. Inicialmente foi necessário investigar a situação dos resíduos de Curitiba, estudar muito para compreender o que é CTSA e os aspectos estudados, então, escrever o tópico das considerações teóricas sobre CTSA. Após ler todas as respostas dos participantes e observar o envolvimento pessoal de cada um, entender como a prática CTSA pode contribuir para uma Educação de qualidade, promoveu o desenvolvimento, não só da pesquisa, mas também o amadurecimento, pessoal, acadêmico e profissional.

REFERÊNCIAS

AIKENHEAD, G. S. Science-technology-society Science education development: from curriculum policy to student learning. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE ENSINO DE CIÊNCIAS PARA O SÉCULO XXI: ACT - Alfabetização em ciência e tecnologia, 1. Brasília, jun, 1990. (Mimeogr.).

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **O tamanho do problema**. Brasília, 2018. Disponível em: https://www.mma.gov.br/responsabilidade-socioambiental/producao-e-consumo-sustentavel/saco-e-um-saco/saiba-mais. Acesso em: 28 dez. 2019.

FREIRE, P. **Pedagogia do oprimido.** Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1987.

IBGE. Conheça Cidades e Estados do Brasil. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Brasil, 2019. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/curitiba/panorama>. Acesso em: 22 ago. 2019.

IBGE. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico**. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Rio de Janeiro, 2008.

McKAVANAGH, C.; MAHER, M. Chalengs to science education and the STS response. **The Australian Science Teachers Journal**. v. 28, n. 2, p. 69-73, 1982.

MORAES, R.; GALIAZZI, M. C. **Análise Textual Discursiva**. 2. ed. Ijuí: Unijuí, 2007.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA. Secretaria Do Meio Ambiente. **Plano de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos.** Curitiba, 2017.

SANTOS, W.; MORTIMER, E. F. Uma análise de pressupostos teóricos da abordagem C-T-S (Ciência – Tecnologia – Sociedade) no contexto da educação brasileira. **Ensaio – Pesquisa em Educação em Ciências**, Belo Horizonte, v. 2, n. 2, p. 110-132, dez. 2000.

SANTOS, W.; SCHNETZLER, R. P. **Educação em química: compromisso com a cidadania. 4ª**. ed. Ijuí: Unijuí, 2014.

SOUZA, K. R.; KERBAUY, M. T. M. Abordagem quanti-qualitativa: superação da dicotomia quantitativa-qualitativa na pesquisa em educação. **Educação e Filosofia**, Uberlândia, v. 31, n. 61, p. 21-44, jan./abr. 2017.

CAPÍTULO 2

ABORDAGEM CIÊNCIA, TECNOLOGIA, SOCIEDADE, AMBIENTE (CTSA) NO ENSINO DE QUÍMICA DO ENSINO SUPERIOR: OFICINAS DE PRODUÇÃO DE SABÃO EM COMUNIDADES PERIFÉRICAS DA CIDADE DE MARABÁ – PARÁ

Data de aceite: 01/02/2021

Aline Maria Viana de Souza
Universidade do Estado do Pará, Curso de Ciência Naturais com Habilitação em Química
Campus Marabá
Pará

Elieuda dos Reis Santos
Universidade do Estado do Pará, Curso de Ciência Naturais com Habilitação em Química
Campus Marabá
Pará

Joana D'arc Alexandre Barbosa
Universidade do Estado do Pará, Curso de Ciência Naturais com Habilitação em Química
Campus Marabá
Pará

Jefferson Dias Vieira
Universidade do Estado do Pará, Curso de Ciência Naturais com Habilitação em Química
Campus Marabá
Pará

Millena Lima Almeida
Universidade do Estado do Pará, Curso de Ciência Naturais com Habilitação em Química
Campus Marabá
Pará

Marcos Francisco Ozorio dos Santos
Universidade do Estado do Pará, Curso de Ciência Naturais com Habilitação em Química
Campus Marabá
Pará

Tatiani da Luz Silva
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Geociências e Engenharias
Marabá-Pará

RESUMO: Tratar ou destinar corretamente os resíduos urbanos é uma responsabilidade da qual a sociedade vem cada vez mais tomando consciência, sendo uma questão de cidadania propor alternativas para que estes rejeitos causem o menor impacto ambiental possível. Assim, aliando o conhecimento dos impactos ambientais causados pelo descarte inadequado de óleo de cozinha nos leitos dos rios da cidade de Marabá-PA e do conhecimento das possíveis alternativas de minimização dos impactos ambientais agregado ao conhecimento químico do que ocorre em tais processos, buscou-se realizar um processo de conscientização ambiental com donas de casas de comunidades periféricas da cidade e promover oficinas de produção de sabão utilizando como obra prima o óleo de fritura que seria descartado. Com isso, levar a Universidade para a realidade de um processo que deve ser monitorado, estimulando os acadêmicos do curso de Licenciatura em Química a buscar soluções para resolver problemas do cotidiano, agregando mais conhecimento a estes e desvincular o conhecimento apenas ao conteúdo ministrado em sala de aula permitindo o desenvolvimento de habilidades e competências dos graduandos, visto que as etapas do processo de elaboração do sabão vem ao encontro de conteúdos ministrados em disciplinas especificas dos cursos desses discentes que incorporam a partir

dessas atividades de processamento, o complemento do agir prático que os tornará apto a desenvolver atividades profissional no futuro mercado de trabalho. A coleta de dados foi obtida com ênfase na aplicação de questionários com a finalidade de verificar o grau de informação destas quanto ao correto armazenamento e utilização de óleos de fritura e seus impactos causados no meio ambiente antes e após a ministração da palestra e realização das oficinas de preparo do sabão.
PALAVRAS-CHAVE: Oficina de sabão, extensão universitária, CTSA.

SCIENCE, TECHNOLOGY, SOCIETY, ENVIRONMENT (CTSA) APPROACH IN HIGHER EDUCATION CHEMISTRY: SOAP PRODUCTION WORKSHOPS IN PERIPHERAL COMMUNITIES IN THE CITY OF MARABÁ - PARÁ

ABSTRACT: Treating or correctly disposing of urban waste is a responsibility from which society increasingly comes becoming aware, being a matter of citizenship to propose alternatives so that these tailings cause the least possible environmental impact. Thus, combining the knowledge of the environmental impacts caused by the inadequate cooking oil in the riverbeds of the city of Marabá-PA and knowledge of possible alternatives for minimizing environmental impacts added to the chemical knowledge of what occurs in such processes, we sought to carry out an environmental awareness process with housewives from communities peripheral areas of the city and to promote soap production workshops using as a masterpiece the frying oil that would be discarded. With that, taking the University to the reality of a process that must be monitored, stimulating academics in the Chemistry Degree course looking for solutions to solve everyday problems, adding more knowledge to them and unlinking knowledge only to content taught in the classroom allowing the development of skills and competences of undergraduate students, since the stages of the soap production meets content taught in specific subjects of the courses of these students who incorporate from these processing activities, the complement of practical action that will make them able to develop professional activities in the future job market. Data collection was obtained with an emphasis on application of questionnaires in order to verify the degree of information of these regarding the correct storage and use of frying oils and their impacts on the environment before and after the lecture and holding soap preparation workshops.
KEYWORDS: Soap workshop; University Extension; ESTS.

1 I INTRODUÇÃO

A extensão universitária, sob o princípio constitucional da indissociabilidade entre ensino, pesquisa e extensão, é um processo interdisciplinar educativo, cultural, científico e político que promove a interação transformadora entre universidade e outros setores da sociedade.

A sociedade, por sua vez, vem assimilando mais veementemente a idéia de que a variável ambiental é importante e que ela diz respeito a todos e não somente às instituições de ensino ou mesmo à iniciativa privada. Cornely (1992) cita que é importante salientar que o homem é natureza, sendo a parte da natureza que tem consciência de si mesma. Será

essa consciência do homem que pode vir a salvá-lo da destruição, pois trata-se de sua própria sobrevivência, assim como do próprio Planeta.

A perspectiva do movimento CTSA (Ciência, Tecnologia, Sociedade e Ambiente) aliada a uma proposta educacional dialógico-problematizadora permite que o conhecimento químico seja trabalhado juntamente com uma formação crítica, conduzindo à reflexão sobre suas implicações sociais e ambientais. Assim como nos traz o PCN, o trabalho pedagógico com a questão ambiental centra-se no desenvolvimento de atitudes e posturas éticas e, no domínio de procedimentos, mais do que na aprendizagem de conceitos. A concepção de Educação Ambiental que compartilhamos parte do princípio de que não há ciência sem o homem, seu trabalho e a natureza, e que os conteúdos e conceitos devem ser considerados instrumentais básicos para a compreensão da relação Natureza, Conhecimento e Sociedade.

Produzir sem destruir e conceber um objeto do cotidiano, do mais simples ao mais sofisticado, tornando seu uso durável e seu fim assimilável por outros processos de vida são princípios que devem ser seguidos por qualquer processo industrial ou não.

Tratar ou destinar corretamente os resíduos urbanos é uma responsabilidade da qual a sociedade não tem que se esquivar. Sendo uma questão de cidadania propor alternativas para que estes rejeitos causem o menor impacto ambiental possível.

Diariamente nos são apresentados uma série de produtos que, por sermos consumidores em potencial, se faz necessário uma escolha. Tal escolha nos faz decidir quais devem ser adquiridos baseados em critérios que devem ser levados em consideração no momento da escolha. Essa decisão poderia ser tomada levando em consideração não somente a eficácia dos produtos para determinados fins, mas também seus efeitos sobre a saúde, seus efeitos ambientais, seu valor econômico, seu valor econômico, as questões éticas relacionadas à sua produção e comercialização.

Os óleos comestíveis, especialmente os que são utilizados comumente em frituras, surgem como um resíduo gerado diariamente nos domicílios domésticos, industrias e estabelecimentos, cuja falta de informação da população e/ou carência de disseminação de conscientização ambiental, este resíduo é despejado diretamente na rede de esgoto (através do descarte em pias e vasos sanitários), causando danos no entupimento dos canos e o encarecimento dos processos das Estações de Tratamento além de acarretar na poluição do meio aquático. (CASTELLANELLI, et al, 2018).

Sendo mais leve que a água, o óleo cria uma barreira na superfície que dificulta a entrada da luz e oxigenação da água. Além de não possuir destinação correta nem tratamento, ao atingir o solo, tem a capacidade de impermeabiliza-lo, dificultando a água chegar até o lençol freático. Apenas 1 litro de óleo contamina o equivalente a 1 milhão de litros de água, o suficiente para o consumo de uma pessoa por um período de 14 anos. A reciclagem surge como uma maneira bastante eficaz para solucionar o problema. Ela é o processo de conversão de materiais que poderiam ser descartados, diminuindo assim

o volume de resíduo, em produtos de potencial utilidade. A reciclagem de resíduos de óleos vegetais atualmente concentra-se na adição do óleo como o ingrediente do biodiesel, técnicas para produção de sabão, resinas para tintas, ração animal massa de vidraceiro, detergente entre outros. (Martins, Lopes e Avelino, 2016).

Reutilizar o óleo vegetal é uma alternativa simples para se preservar o meio ambiente.

Nesta proposta, consideramos o consumo, produção e descarte do óleo de soja, comumente utilizado por milhões de brasileiros, especialmente as donas de casa e por estabelecimentos que utilizam óleo em processos de fritura do município de Marabá.

2 | JUSTIFICATIVA

O estudo da química é essencial para o ser humano compreender a natureza. Segundo Cardoso e Colinvaux (2000), a química possibilita o desenvolvimento de uma visão crítica do mundo, permitindo a análise, a compreensão e a utilização de conhecimentos químicos no cotidiano. Ou seja, a importância da química consiste na formação do aluno como um cidadão, capaz de observar, compreender, analisar e questionar os fenômenos que ocorrem a sua volta.

Convém ressaltar que, de acordo com essas autoras, o ensino desvinculado do cotidiano é baseado na memorização de fórmulas e conceitos, compromete o entendimento (por parte dos alunos) das razões e objetivos que justificam a importância da química.

Em virtude disso, Trevisan e Martins (2006) corroboram que a química é vista por muitos alunos como uma disciplina de difícil compreensão e que, na maioria das vezes, os alunos "*não percebem o significado ou a validade do que estudam*".

Assim, aliando o conhecimento dos impactos ambientais causados pelo descarte inadequado de óleo de cozinha nos leitos dos rios de nossa cidade, do quantitativo descartado e do conhecimento das possíveis alternativas de minimização dos impactos ambientais agregado ao conhecimento químico do que ocorre em tais processos, busca-se, além de fazer todo um levantamento teórico do quantitativo de óleo que é descartado, de realizar um processo de conscientização ambiental com donas de casas, a priori, de comunidades periféricas da cidade de Marabá, promovendo oficinas de produção de sabão utilizando como obra prima o óleo de fritura que seria descartado. Com isso, levar a Universidade para a realidade de um processo que deve ser monitorado, estimulando os acadêmicos do curso de Licenciatura em Química a buscar soluções para resolver problemas do cotidiano, agregando mais conhecimento a estes e desvincular o conhecimento apenas ao conteúdo ministrado em sala de aula permitindo o desenvolvimento de habilidades e competências dos graduandos, visto que as etapas do processo de elaboração do sabão vem ao encontro de conteúdos ministrados em disciplinas especificas dos cursos desses discentes que incorporam a partir dessas atividades de processamento, o complemento do agir prático

que os tornará aptos a desenvolver atividades profissional no futuro mercado de trabalho.

Desse modo, as atividades de extensão universitária estreitam os diálogos entre universidade – sociedade com o objetivo de desenvolver ações que fortalecem a colaboração em projetos de emancipação humana.

3 I LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

3.1 Óleos comestíveis

Na sociedade contemporânea a tendência de consumo de alimentos fritos e pré-fritos tende sempre a aumentar devido ao caos resultante da falta de tempo, provocando o aumento de hábitos alimentares irregulares e nada saudáveis, caindo inevitavelmente em uma maior ingestão de óleos e gorduras após terem sido submetidos a elevadas temperaturas em processos de fritura. As pessoas dispõem de menos tempo para preparação de seus alimentos, assim, o processo de fritura fornece uma alternativa de sua preparação rápida ao mesmo tempo conferindo aos alimentos fritos características organolépticas agradáveis. Dentre as atividades responsáveis por gerar resíduos de óleos alimentares, destacam-se: as atividades domésticas, atividades industriais e estabelecimentos como hotéis, restaurantes, refeitórios, cantinas, etc. Estes óleos resultam essencialmente da utilização de óleos de origem vegetal.

Ordem	Oleaginosas	Rendimento (%)
01	Algodão	30-40
02	Amendoim	40-50
03	Arroz	15-23
04	Babaçu	58-67
05	Coco	50-65
06	Colza	39-45
07	Gergelim	48-55
08	Girassol	45-55
09	Linhaça	35-45
10	Mamona	45-55
11	Milho (germe)	30-36
12	Palma (dendê)	35-45
13	Palmiste	55-65
14	Soja	18-21

Tabela 1: Principais oleaginosas e seus rendimentos em óleo

Fonte: Martins, Lopes e Avelino, 2016.

3.2 Pós uso e o Meio Ambiente

O volume cada vez maior de resíduos sólidos e líquidos gerados diariamente nos centros urbanos tem trazido uma série de problemas ambientais, sociais, econômicos e administrativos, todos ligados a crescente dificuldade de implementar a correta disposição desses resíduos. O descarte de óleos de fritura usados nas pias e vasos sanitários, ou diretamente na rede de esgotos é o maior exemplo. Tais procedimentos, além de provocar graves problemas ambientais, pode provocar o mau funcionamento das Estações de Tratamento de Águas Residuais e representa um desperdício de uma fonte de energia. O despejo de águas residuais contendo óleos alimentares usados nas linhas de água, tem como consequência a diminuição da concentração de oxigênio presente nas águas superficiais, devendo-se tal situação principalmente ao fato deste tipo de águas residuais conterem substâncias consumidoras de oxigênio (matéria orgânica biodegradável), que ao serem descarregadas nos cursos de água, além de contribuírem para um aumento considerável da carga orgânica, conduzem a curto prazo a uma degradação da qualidade do meio receptor. Além disso, a presença de óleos e gorduras nos efluentes de águas residuais provoca um ambiente desagradável com graves problemas ambientais de higiene e maus cheiros, provocando igualmente impactos negativos ao nível da fauna e flora envolventes. Outra prática incorreta de deposição deste tipo de resíduos está associada à descarga dos mesmos para as redes públicas de esgoto e coletores municipais, as quais podem provocar grandes problemas de entupimento e obstrução dos mesmos. Outra consequência da descarga para as redes públicas de esgoto e coletores municipais resulta no seu encaminhamento para as Estações de Tratamento (quando existe esta solução, caso ainda não evidente para a totalidade do território nacional), contribuindo significativamente para o aumento dos níveis de CBO (Carência Bioquímica de Oxigênio), de CQO (Carência Química de Oxigênio) e de SST (Sólidos Suspensos Totais) nas águas residuais a tratar, dificultando o desempenho e funcionamento eficiente das Estações de Tratamento, pelo fato do aumento da concentração destes parâmetros conduzirem a um considerável consumo de energia no desempenho das mesmas, além de implicarem manutenções e limpezas mais freqüentes nos equipamentos de separação de óleos e gorduras associadas a gastos consideráveis de tempo neste tipo de operações.

Felizardo (2003) observou que uma alternativa simples e que facilmente pode ser colocada em prática é o armazenamento de óleos utilizados em garrafas de plástico, como por exemplo as garrafas PET de refrigerantes vastamente utilizadas e também descartadas de maneira inadequada no meio ambiente, fechando-as e colocando-as no lixo doméstico. Quando o lixo orgânico é triado, as garrafas são abertas e vazadas em um local adequado ao invés de serem despejadas nos esgotos, evitando-se desta maneira gastos desnecessários com tratamento nas estações de esgoto. Os óleos alimentares usados lançados na rede hídrica e nos solos provocam a poluição dos mesmos. Se o

produto for para a rede de esgoto, encarece o tratamento dos resíduos, e o que permanece nos rios provoca a impermeabilização dos leitos e terrenos adjacentes que contribuem para a enchente. Também provoca a obstrução dos filtros de gorduras das Estações de Tratamento, sendo um obstáculo ao seu funcionamento ótimo. É importante salientar que benefícios econômicos podem advir da reutilização do óleo de fritura usado, como a fabricação de sabão, lubrificantes e principalmente biocombustível de alta qualidade, desta forma em conjunto com o modelo proposto neste trabalho é de suma importância que idéias inteligentes se multipliquem em nossa sociedade para um esquema que também possa gerar lucro, somado aos benefícios ambientais.

De acordo com Peruzzo e Canto (1999) a palavra saponificação tem origem lendária da antiga civilização romana, no Monte Sapo, onde eram realizados sacrifícios de animais. Uma mistura de gordura animal, cinzas e barro eram levadas pela chuva para as margens do rio Tibre, mistura essa que formava uma borra chamada de sabão que usada para lavar roupas as tornavam mais limpas. Assim os Romanos passaram a chamar essa mistura de sabão e a reação de obtenção de sabão por saponificação, quimicamente chamada de hidrólise dos glicerídeos.

De acordo com a ABES (2007) o despejo de óleos residuais nos esgotos pluviais e sanitários provoca impactos ambientais significativos:

- Os óleos emulsificam-se com a matéria orgânica, ocasionando entupimentos em caixas de gordura e tubulações;

- Quando lançados diretamente em bocas-de-lobo ocasionam obstruções, emulsificando e formando "pastas", inclusive retendo resíduos sólidos. Em alguns casos a desobstrução de tubulações necessita a alocação de produtos químicos tóxicos;

- Em grande parte dos municípios brasileiros há ligação da rede de esgotos cloacais à rede pluvial e a arroios. Nesses corpos hídricos, em função de imiscibilidade do óleo com a água e sua inferior densidade, há tendência à formação de filmes oleosos na superfície, o que dificulta a troca de gases da água com a atmosfera, ocasionando depleção das concentrações de oxigênio e anaerobiose, resultando em morte de peixes e outras criaturas aeróbias. Na rede de esgotos os entupimentos podem ocasionar pressões que conduzem à infiltração do esgoto no solo, poluindo o lençol freático ou ocasionando refluxo à superfície;

- No ambiente, em condições anaeróbias, pode haver metanização dos óleos, contribuindo para o efeito estufa;

- Quando não houver tratamento de esgotos prévio ao lançamento ao corpo receptor, elevam-se as concentrações de óleos totais no mesmo, depreciando sua qualidade para vários fins, podendo verificar se modificação pontual de pH e diminuição da taxa de trocas gasosas da água com a atmosfera. A temperatura do óleo sob o sol pode chegar a 60ºC, matando animais e vegetais

microscópicos.

Quando as águas residuais que contém óleos usados chegam as linhas de água, causam a diminuição da concentração de oxigênio nas águas superficiais devendo-se tal situação principalmente ao fato deste tipo de águas residuais conterem substâncias consumidoras de oxigênio (matéria orgânica biodegradável), que ao serem descarregadas nos cursos de água, além de contribuírem para um aumento considerável da carga orgânica, conduzem a curto prazo a uma degradação da qualidade do meio receptor. A presença de OGs nos efluentes de águas residuais também provoca graves problemas ambientais de higiene e maus cheiros, provocando igualmente impactos negativos ao nível da fauna e flora envolventes (Montes, 2019).

A safra agrícola em 2018 foi de aproximadamente de 226,2 milhões de toneladas (IBGE, 2019).

Mês: Janeiro 2019

Produtos agrícolas	Área (ha)		Produção (t)	
	Total	Partic %	Total	Partic %
TOTAL	62 135 908	100	230 709 705	100
ALGODÃO HERBÁCEO (em caroço)	1 361 442	2,2	3 276 532	1,4
AMENDOIM (em casca) - TOTAL	153 978	0,2	553 150	0,2
AMENDOIM (em casca) 1ª safra	145 979	0,2	541 843	0,2
AMENDOIM (em casca) 2ª safra	7 999	0	11 307	0
ARROZ (em casca)	1 745 043	2,8	11 148 148	4,8
AVEIA (em grão)	405 051	0,7	769 216	0,3
CENTEIO (em grão)	4 368	0	7 396	0
CEVADA (em grão)	99 601	0,2	310 693	0,1
FEIJÃO (em grão) - TOTAL	2 881 383	4,6	2 929 244	1,3
FEIJÃO (em grão) 1ª safra	1 629 977	2,6	1 301 061	0,6
FEIJÃO (em grão) 2ª safra	1 059 627	1,7	1 126 474	0,5
FEIJÃO (em grão) 3ª safra	191 779	0,3	501 709	0,2
GIRASSOL (em grão)	69 130	0,1	102 608	0
MAMONA (baga)	34 527	0,1	17 664	0
MILHO (em grão) - TOTAL	16 955 594	27,3	89 426 923	38,8
MILHO (em grão) 1ª safra	4 949 518	8	26 376 418	11,4
MILHO (em grão) 2ª safra	12 006 076	19,3	63 050 505	27,3

SOJA (em grão)	35 581 176	57,3	114 721 472	49,7
SORGO (em grão)	818 076	1,3	2 326 313	1
TRIGO (em grão)	2 009 981	3,2	5 079 287	2,2
TRITICALE (em grão)	16 558	0	41 059	0

Tabela 2: Área e Produção de Cereais, Leguminosas e Oleaginosas Segundo os Produtos Agrícolas - Brasil

Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisa, Coordenação Agropecuária, Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, Jan/2019.

As tabelas acima sugerem que a quantidade de óleo a ser consumido tende a aumentar visto a estimativa de produção, logo, a quantidade de óleo a ser descartado inadequadamente no meio ambiente é muito grande.

4 I OBJETIVOS

4.1 Geral

- Contribuir para desenvolver nos alunos do curso de Licenciatura em Química valores éticos e participação consciente diante de questões da ciência, tecnologia e sociedade.

4.2 Específicos

- Capacitar discentes do curso de Licenciatura em Química da UEPA quanto aos impactos ambientais, sócio-culturais, causados pelo descarte inadequado de óleo de fritura diretamente no leito dos rios Itacaiúnas e Tocantins;
- Realização da oficina de produção de sabão utilizando óleo de fritura;
- Promover o diálogo entre a comunidade acadêmica e a comunidade externa quanto a questões ambientais e socioculturais;
- Estabelecer um vínculo da sociedade com a instituição através de oficinas e palestras;
- Promover a elaboração de experiências pedagógicas inovadoras para o ensino de Química e Ciências;

5 I METODOLOGIA

O trabalho é objeto de estudo de um projeto de extensão universitária cujos participantes foram discentes do curso de Licenciatura em Química da Universidade

Estadual do Pará que atuaram como instrutores nas oficinas e donas de casa de comunidades periféricas do município de Marabá – PA.

Primeiramente, os discentes do curso de licenciatura participaram de uma oficina com a coordenadora do projeto de extensão para que os mesmos produzissem, testassem e tirassem suas próprias conclusões quanto aos produtos selecionados para serem produzidos nas comunidades. Depois, foi realizado o trabalho de divulgação e convite a participação nas oficinas que ocorreram na própria comunidade.

Os participantes foram previamente convidados a armazenar o óleo utilizado em suas residências para assim, utiliza-los durante a oficina.

Foi solicitado ao coordenador da comunidade um espaço para a realização das atividades. Foram contatadas duas comunidades para a realização das oficinas. Com a aprovação dos mesmos, deu-se início ao planejamento das oficinas e palestra.

Foi elaborado dois questionários para serem aplicados antes e após a execução do projeto. Também foi programado um lanche para os participantes.

Foram montadas quatro equipes que ficaram responsáveis por desenvolver uma atividade. Todas as participantes passaram por todas as oficinas que consistiram na fabricação de sabão comum em barra, sabão em barra glicerinado, sabão líquido, detergentes, desinfetante, alvejante sem cloro e amaciante, cujos procedimentos foram entregues diretamente a elas no ato de execução das oficinas.

6 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A priori, as donas de casa estavam apreensivas quanto a responder ao primeiro questionário, pois pensavam que estariam sendo avaliadas ou que seriam repreendidas por práticas inadequadas, mas, logo que elas foram sendo engajadas no contexto da educação ambiental e de fato conseguiram produzir sabão a partir do óleo que as mesmas trouxeram de suas casas o ambiente ficou bem harmonioso e de fácil aprendizado. A divulgação e convite de participação nas oficinas ocorreu nos bairros e um local foi cedido pelo líder da comunidade local para que a palestra e oficinas ocorressem.

Foram realizados dois encontros em locais localizados nas próprias comunidades, que ocorreram nos sábados no período da manhã, durando em média 5h. As mães foram acolhidas e primeiramente a equipe foi apresentada juntamente com o projeto de extensão em execução, quais os objetivos e metas do mesmo e em seguida deu-se a oportunidade da comunidade se apresentar. Logo após, foi dado início a ministração da palestra que tratou de contextualizar e engajar a química nas atividades cotidianas das participantes. Foram discutidos conceitos sobre sabão, solubilidade, polaridade, reações químicas, estrutura química do sabão, reação de saponificação e normas de segurança. No decorrer da palestra, as participantes foram refletindo sobre suas respectivas respostas ao questionário previamente preenchido e foram reestruturando os saberes preliminares

que elas possuíam. Muitos questionamentos foram sendo colocados e esclarecidos no decorrer da palestra. Por fim, cada uma recebeu os procedimentos experimentais a serem executados e deu-se início as oficinas.

Apesar do convite realizado na comunidade escolhida para a realização da oficina de reciclagem de óleo de fritura na produção de sabão foi aberto ao público em geral, 100% dos participantes eram do sexo feminino, sendo em sua grande maioria donas de casa e a faixa etária das participantes foi de 25 a 49 anos.

Analisando as respostas dadas no questionário prévio para se saber o grau de instrução das participantes do projeto quanto as questões ambientais relacionadas ao descarte inadequado de óleo remanescente de frituras nas pias, quanto ao conhecimento do mecanismo de ação de sabões e detergentes utilizados na limpeza doméstica, observaram-se que todas as participantes da oficina responderam que sabem o que é sabão, para que são utilizados e o porquê de serem utilizados na limpeza. Porém, ao serem levadas a refletir sobre algumas situações durante a ministração da palestra as participantes foram observando que as respostas não correspondiam de fato com a realidade. As mesmas não tinham conhecimento das matérias primas utilizadas no processo de fabricação do sabão, além de alimentar questões do tipo: “um bom sabão é aquele que produz a maior quantidade de espuma durante o processo de lavagem”, onde 77% responderam que sabão bom tem que fazer espuma considerando que os sabões que não espumam não são eficientes na limpeza.

Das donas de casa, 62% responderam não saber como o sabão é obtido. Aquelas que interagiam melhor com a equipe relatavam que o sabão era obtido somente por processos industriais e que não teriam acesso aos produtos químicos utilizados no processo.

Quando questionadas se reutilizariam o óleo de fritura remanescente em suas casas, apenas 54% responderam que sim, sendo que 46% afirmaram utilizar cerca de 2 litros de óleo mensalmente em suas residências.

Ao serem questionadas quanto a reciclagem do óleo de cozinha, 85% responderam que não reciclam e que a pia da cozinha era o destino do óleo a ser descartado. Embora não apresentar interesse em reciclar, 15% disseram estocar o óleo para descarte para doar para algum conhecido que recicla o óleo. Condizente com estas informações, 54% das participantes afirmaram não saber quais os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado do óleo de fritura remanescente de utilização na culinária. Infelizmente, refletindo uma realidade local, 70% das donas de casa desconhecem a importância da reciclagem do óleo de cozinha como método de preservação do meio ambiente. E finalizando os questionamentos diagnósticos, todas garantem que utilizariam um sabão proveniente da reutilização de óleo de descarte de fritura em seu cotidiano.

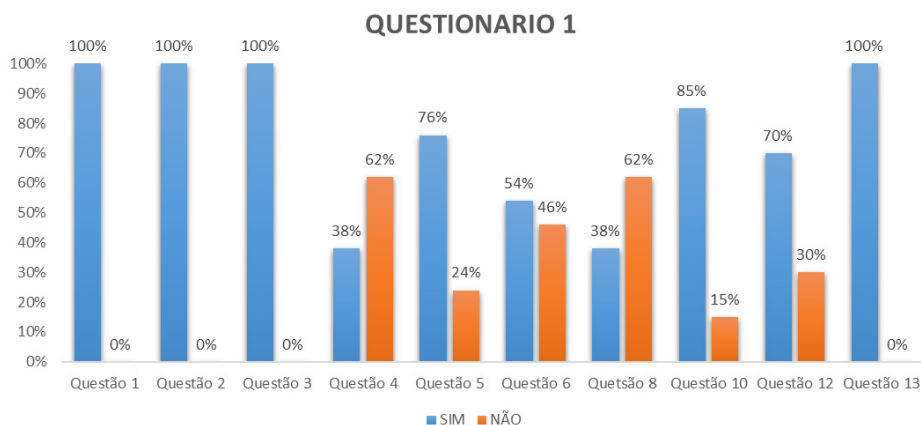



Figura 1: Respostas referentes a aplicação do primeiro questionário para averiguação dos conhecimentos prévios das participantes antes da palestra e oficinas.

Após responder ao questionário diagnóstico as participantes do projeto participaram de uma palestra onde foi abordado primeiramente a questão ambiental que permeia o descarte inadequado de óleo nas pias das cozinhas das residências. Procurou-se na ministração da palestra interagir bastante com elas para que o objetivo principal seja alcançado, que é a conscientização delas quanto ao tema e uma mudança de mentalidade e atitude. Foi utilizado uma apresentação em power point com projeção em quadro branco para facilitar a visualização das imagens que ajudaram na abordagem do conteúdo. O segundo ponto abordado foi a abordagem química. Vários questionamentos foram levantados com o objetivo de buscar o conhecimento prévio das mesmas fazendo com que elas percebam o conhecimento existente baseado em situações corriqueiras que fazem parte da rotina de todos. Utilizando uma linguagem menos técnica, visto que as mesmas, em sua maioria, declararam possuir apenas o ensino fundamental completo e buscando interagir o máximo possível buscando trazer situações do cotidiano de todas para exemplificar cada etapa abordada, foi possível abordar temas da química como: solubilidade, moléculas polar, molécula não polar, como ocorre o processo de remoção da sujeira pela molécula do sabão.

Imediatamente após a palestra as participantes participaram da oficina de produção de sabão, detergente e outros produtos de limpeza (sabonete líquido, alvejante sem cloro, desinfetante).

Elas tiveram a oportunidade de produzir seu sabão e outros produtos de limpeza e foi possível observar a satisfação nesse processo e ainda mais, elas conseguiam trazer tudo aquilo que foi abordado na palestra para discutir os procedimentos realizados na oficina. Todos os produtos foram distribuídos entre as mesmas e para finalizar as atividades foi solicitado o preenchimento de um segundo questionário para analisar aquilo que foi bem

absorvido e sobre a metodologia aplicada em toda a atividade.

Após a palestra e a realização das oficinas todas as participantes afirmaram saber o que vem a ser o sabão, para que ele é utilizado e qual a sua função na limpeza. Ficou bastante claro para as mesmas a função do óleo utilizado na preparação do sabão. Foi possível também desmitificar o fator de um bom sabão ser aquele que produz a maior quantidade de espuma, pois testamos todos os tipos de sabão produzidos na oficina, em barra, líquido, comum, glicerinado e verificou-se que todos conseguiram remover toda a sujeira da louça testada, inclusive gordura. Assim, as participantes foram capazes de explicar que p sabão auxilia na limpeza, pois atua juntamente com a água que é o solvente na remoção da parte apolar dos resíduos sólidos presentes na sujeira. Todas as participantes afirmaram não descartar novamente óleo de cozinha na pia. Apesar de responderem que não irão descartar o óleo, apenas 90% apresentaram interesse em reciclar o óleo na produção de sabão.

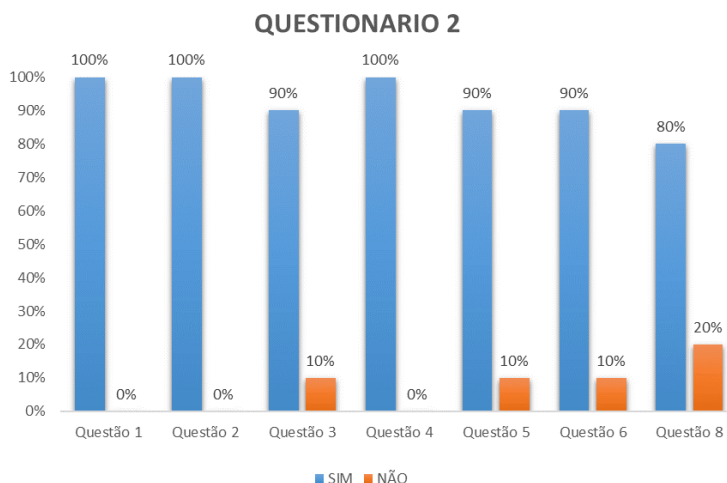



Figura 2: Respostas referentes a aplicação do segundo questionário, após palestra e oficinas.

Com relação ao local adequado para o descarte do óleo de cozinha, 90% dos participantes afirmam que a estocagem em recipientes adequados é a melhor alternativa e 10% das participantes doarão o óleo para coleta seletiva. As participantes do projeto, 90%, consideram a possibilidade de participação em um programa de coleta seletiva de óleo de fritura, demonstrando dessa maneira como as colocações na palestra resultaram em mudança da mentalidade e buscar alternativas para contribuir com a preservação do meio ambiente, principalmente na área onde as mesmas residem. As mesmas perceberam a importância dos benefícios oriundos da reciclagem do óleo após o seu uso. Tais atitudes são essenciais para a colaboração direta quanto a minimização dos impactos ambientais

causados por tais práticas que, infelizmente, ainda é bastante praticado principalmente por pessoas que por falta de informações, não conhecem os benefícios da reciclagem. Dessa forma, 70% das donas de casa atentaram para a observação de que tais práticas afetam os lençóis freáticos, rios, lagos, prejudicam o escoamento de água em bueiros, etc. Todas as participantes reconhecem a importância da reciclagem do óleo de fritura após o uso e todas levaram seus produtos produzidos na oficina para serem utilizados em suas casas, provenientes do óleo de fritura que as mesmas trouxeram para a realização da oficina. A priori, elas estavam com dúvidas quanto a utilização do sabão produzido, mas após o resultado, após verem, testarem os produtos, elas não apresentaram resistências quanto a sua utilização.

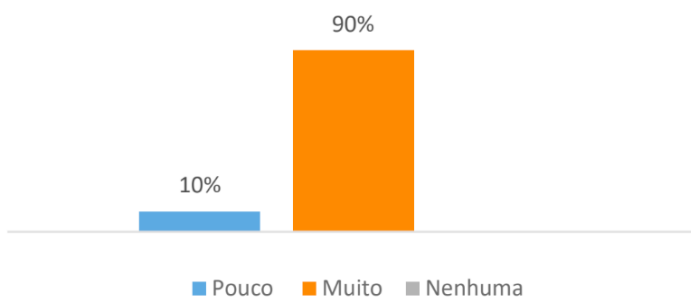



Figura 3: Respostas referentes a aplicação do segundo questionário: Qual o interesse sobre práticas que ajudam a preservar o meio ambiente?

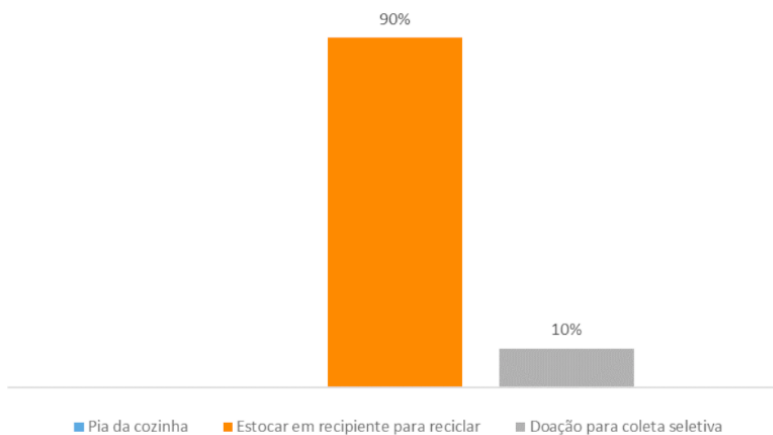



Figura 4: Respostas referentes a aplicação do segundo questionário: A partir do conhecimento repassado na palestra, onde é o local mais adequado para o descarte do óleo residual resultante da fritura de alimentos em sua casa?

7 I CONCLUSÃO

É dever do cidadão possuir poder de decisão e saber fazer escolhas sem depender somente de seus representantes políticos, tendo a capacidade de expressar opiniões e possuir o poder de tomar decisões fundamentadas. Porém, essa realidade não chega a grande parte da sociedade, principalmente se tratando de comunidades periféricas, onde o índice de evasão escolar é elevado e há um déficit de engajamento desse público com a comunidade universitária, visto que esta relação ainda vem sendo construída timidamente na cidade de Marabá. Com isso, um dos objetivos do ensino pautado nos princípios do CTSA é de proporcionar uma educação voltada para formação social voltada para a ciência e tecnologia levando em consideração seu contexto social. Observou-se com o desenvolvimento da palestra e mais ainda com a realização das oficinas, que as participantes conseguiram interagir com a comunidade universitária integrante do projeto desenvolvendo assim, uma relação mais estreita entre os discentes do curso de licenciatura em química com a comunidade local tendo a oportunidade de utilizar os conhecimentos adquiridos em sala de aula na prática. Foi notável a satisfação tanto das donas de casa quanto dos discentes na aquisição e transferência de conhecimentos. Apuramos que após o desenvolvimento da pesquisa, incentivamos o processo de conscientização das participantes quanto as questões ambientais que fazem parte do cotidiano delas sendo que as mesmas foram estimuladas a refletirem sobre seus hábitos e possivelmente, uma mudança em suas atitudes conforme apresentadas nas respostas dos questionários aplicados. Assim, o trabalho de extensão universitária ajuda na aproximação da sociedade externa com a comunidade universitária estimulando a formação dos discentes.

REFERÊNCIAS

ABES - CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24º, 2007, Belo Horizonte (MG). Destinação de óleos de fritura. Porto Alegre: Abes, 2007.

CASTELLANELLI, C.A.; MELLO, C. I.; RUPPENTHAL, J. E.; HOFFMANN, R. Óleos comestíveis: o rótulo das embalagens como ferramenta informativa da correta destinação pós uso. I encontro de sustentabilidade em projeto do Vela do Itajaí. Abril, 2007. Disponível em: http://ensus2007.paginas.ufsc.br/files/2015/08/%C3%93leos-Comest%C3%ADveis-O-R%C3%B3tulo-das-Embalagens-como-Ferramenta-I1.pdf. Acesso em fevereiro de 2019.

CORNELY, S.A. Introdução à ecologia social. Veritas, Porto Alegre, v. 37, n. 148, p. 663-671, dez. 1992.

FELIZARDO, P.M. Produção de Biodiesel a Partir de Óleos Usados de Fritura. Relatório de estágio. Lisboa: IST, 2003.

IBGE. https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/22779-crescimento-da-soja-segura-reducao-da-estimativa-da-safra-2018. Acesso em fevereiro de 2019.

MARTINS, A. B.; LOPES, C. V.; AVELINO, M. C. G. S. RECICLAGEM DE ÓLEOS RESIDUAIS DE FRITURA: Rotas para a reutilização. Rev. Conexão Eletrônica. Volume 13, Número 1, Três Lagoas, MS, 2016.

MARTINS, G. B. C.; MELLO, V. M.; SUAREZ, P. A. Z. Processos térmicos em óleos e Gorduras. Revista Virtual de Química. 5(1), 16-25, 2013.

MONTES. P. R. Sistema para produção de tinta de impressão utilizando resina obtida de óleo residual. Universidade de Brasília – Instituto de Química – Trabalho de Conclusão de Curso. 53p. Brasília. 2016. Disponível em: http://bdm.unb.br/bitstream/10483/16631/1/2016_PedroRafaelMontes_tcc.pdf. Acesso em fevereiro de 2019.

PERUZZO, M. T.; CANTO, E. L.Quimica. São Paulo: Moderna, p.180, 1999.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. A química dos óleos e Gorduras e seus processos de extração e refino. Revista Virtual de Química. 5(1), 2-15, 2013.

RIBEIRO, E. M. F.; MAIA, J. O.; WARTHA, E. J. As questões Ambientais e a Química dos Sabões e Detergentes. Química Nova na Escola. Vol. 32, n° 3, Agosto, 2010.

VELOSO, Y. M. S.; FREITAS, L. F .L.; AMARAL FILHO, J. H. B.; SANTOS, I. T.; LEITE, M. S.; ARAÚJO, P. J. L. Rotas para reutilização de óleos residuais de fritura. Cadernos de Graduação. Ciências Exatas e Tecnológicas. V. 1. N° 15, p. 11-18, Sergipe, out. 2012.

VERANI, C. N.; GONÇALVEZ, D. R.; NASCIMENTO, M. G. Sabões e Detergentes como tema organizador de aprendizagem no Ensino Médio. Química Nova na Escola. Relatos de Sala de Aula. N° 12, Novembro, 2000.

CAPÍTULO 3

O USO DA QUÍMICA DOS PERFUMES NO ENSINO DE QUÍMICA ORGÂNICA EXPERIMENTAL

Data de aceite: 01/02/2021

Gabriel de Paula Bueno
Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná
Curitiba – PR, Brasil

Olga Maria Schimidt Ritter
Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Toledo – PR, Brasil

Taís Viviane Hanauer
Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Toledo – PR, Brasil

Victor Leonardo Rodrigues Pinheiro
Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Toledo – PR, Brasil

Bruna Sthephany Grassi Magalhães
Departamento de Processos Químicos e Biotecnológicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Toledo – PR, Brasil

RESUMO: Os perfumes foram relatados desde antigas civilizações e agora fazem parte de nossas vidas; seja mudando o humor ou instigando certas emoções. Pensando nisso, o grupo PET-q resolveu relatar esse interessante assunto com a aula de química orgânica; no que diz respeito aos aspectos históricos dos perfumes, metodologia sintética, análise por FTIR e posterior avaliação metodológica.

PALAVRAS-CHAVE: Perfumes; Química; Orgânica.

THE USE OF PERFUMES CHEMISTRY IN THE TEACHING OF EXPERIMENTAL ORGANIC CHEMISTRY

ABSTRACT: Perfumes have been reported since ancient civilizations and are now part of our lives; either by changing the mood or instigating certain emotions. Thinking about it, the PET-q group decided to report this interesting issue with the organic chemistry class; concerning historical aspects of perfumes, the synthetic methodology, FTIR analysis and subsequent methodological evaluation.

KEYWORDS: Perfumes; Chemistry; Organic.

INTRODUÇÃO

Uma breve história dos perfumes

Os primeiros relatos dos perfumes surgiram há cerca de 4000 anos entre os povos da Mesopotâmia na forma de incenso. As essências originais continham ervas e especiarias como o coentro e murta, e sempre estavam associados a uma mística religiosa, como forma de homenagear os deuses, ou como uma prece (Byl, 2012). Os sacerdotes realizavam a queima de folhas, madeiras e materiais de origem animal, na crença de que a fumaça adocicada levaria seus pedidos os seus deuses. Daí surge a derivação do nome “perfume”, que na origem latina per (através) e

fumare (fumaça) (Herz, 2011; Dias *et al.*, 1996).

A perfumaria, como a arte de fazer perfume, só surgiria mais tarde, com a formação de um complexo de substâncias (essências) que lhes conferiam o seu aroma agradável. Os egípcios foram os primeiros a utilizar o perfume de forma pessoal, onde colocavam o complexo de essências em um cone de cera sobre a cabeça, que posteriormente derretia e lhes perfumavam (Herz, 2011; Byl, 2012). Somente quando os persas introduziram o processo de extração de óleos essenciais de flores e plantas por destilação, é que a produção do perfume tomou a forma que é utilizada hoje em dia. O método foi revolucionário pois separava diferentes substâncias com propriedades químicas diferentes entre as misturas (Houlihan *et al.*, 1975). Vale ressaltar também que os romanos aprenderam as técnicas de perfumaria usadas pelos persas por meio da expansão territorial.

Com o advento do cristianismo, o uso dos perfumes foi repudiado por serem associados a rituais profanos. Os árabes continuaram com o uso e perpetuação da perfumaria, a qual só iria ressurgir no Ocidente na época das grandes navegações, com a busca das especiarias trazidas das Índias (Dias *et al.*, 1996). Os desbravadores trouxeram toda a destreza na arte da perfumaria oriental para a Europa, no final do século XIII, devido as decorrentes idas e vindas dos mercadores. Paris se tornou o epicentro do desenvolvimento e da cultura do perfume, posição que manteve desde então. Já nos séculos XVI e XVII, a mania de perfumar tudo era tão extensa que até mesmo animais de estimação e joias eram expostos aos aromas favoritos de seus donos (Herz, 2011; Dias *et al.*, 1996).

Já no século XVIII, o perfume desfrutou de *status* de alta moda e, quanto maior a importância social, melhor a fragrância usada. A corte de Luís XV, rei da França de 1715 a 1774, era conhecida como "*La Cour Parfumée*" (Corte perfumada), e era esperado que a aristocracia usasse um perfume diferente para cada dia da semana (Morie *et al.*, 2020, Classen *et al.*, 1994).

Após gozar de seus status de nobreza e prestígio o perfume acabou ganhando má reputação devido à promoção da teoria dos germes e ao entendimento de que a sujeira (que geralmente cheira) transmitia doenças. Assim todos os tipos de aromas começaram a ser percebidos como maus, e usar fragrâncias tornou-se estereotipado, sendo utilizado por alguns poucos e distinto por gênero (Herz, 2011). O uso do perfume se manteve assim por muitas décadas até que em meados de 1950, houve uma quebra inesperada na repressão e no tabu que o perfume sofreu. Durante a era conservadora de 1950, Ernest Beaux desenvolveu o perfume que revolucionou a arte de fazer perfume, sendo utilizado por muitos artistas (como Marilyn Monroe), que popularizou e tornou-o conhecido até hoje como Chanel nº 5, sendo este o perfume mais famoso do mundo, superando muitos de seus rivais modernos. O Chanel nº 5 também foi a primeira fragrância a ser criada usando produtos químicos sintéticos (Mazzeo, 2012).

Composição e classificação dos perfumes

Os perfumes contemporâneos contêm de dezenas a centenas de substâncias; sendo compostos por óleos essenciais derivados de extratos de plantas aromáticas naturais e/ou produtos sintéticos aromáticos que são classificados por grupo estrutural (por exemplo, álcoois, ésteres, aldeídos e terpenos) (Sell, 2015); além destes, também são utilizados os fixadores, substâncias naturais ou sintéticas usadas para reduzir a taxa de evaporação, aumentando a resistência do odor e sua estabilidade; Por fim são acrescentados os solventes, líquidos no qual o óleo perfumado é dissolvido. O solvente mais utilizado é uma solução típica de etanol a 98% e água 2% (Sell, 2015; Teixeira *et al.*, 2013).

As fragrâncias são designadas de acordo com o nível de concentração, família à qual pertencem e as suas notas, como na Figura 1 (Dias et al., 1996). O nível de concentração do óleo de perfume em uma fragrância fina indica sua intensidade e duração prevista na pele. Quanto mais concentrado o perfume, mais forte será, e mais tempo ele durará. Embora exista variabilidade nas definições, existem quatro principais classificações de concentração de perfume. O perfume contém entre 15 % e 30 % de compostos aromáticos; a loção perfumada contém de 15 a 20 % de compostos aromáticos; a água de toalete varia de 5 % a 15 % de compostos aromáticos; e a água de colônia contém entre 2 % e 4 % de compostos aromáticos (Sinks, 2019).

A segunda categoria de agrupamento dos perfumes é por sua família e subtipo de família. As famílias de perfume são designadas com termos de classificação tradicionais e modernos. As principais famílias de perfumes são a floral (obtidos de flores), verde (óleos de árvores e arbustos, como por exemplo, o eucalipto e o pinho), animal (proveniente de óleos de animais selvagens como os veados almiscareiros e de castores) e a amadeirada (proveniente de cascas e troncos de árvores, como o cedro e o sândalo). Os subtipos da família de aromas incluem termos como fresco, aldeído, âmbar, frutado, picante, amadeirado e animal (Herz, 2011; Dias *et al.*, 1996).

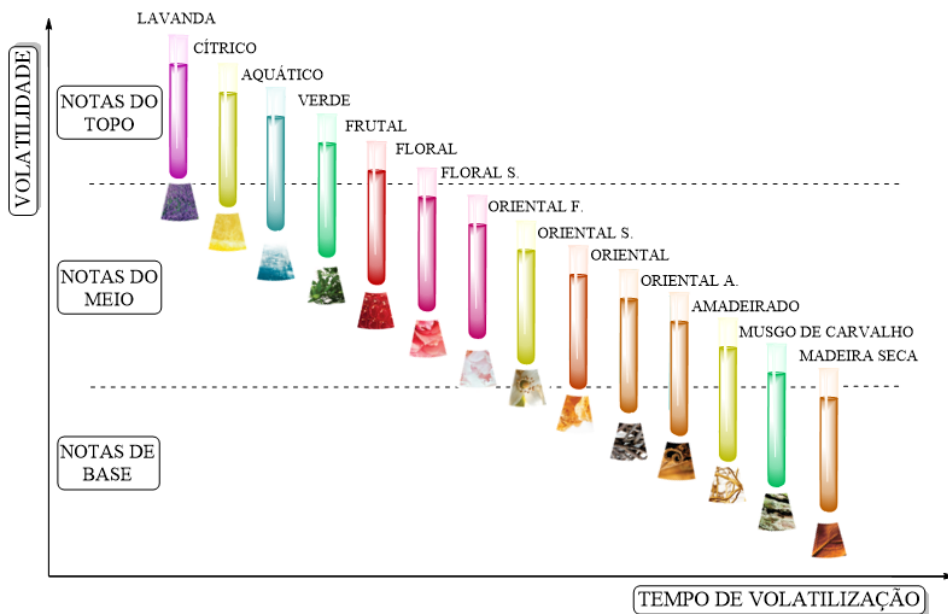



Figura 1. Classificação das notas de um perfume e suas fragrâncias.

A terceira classificação da qualidade olfativa de um perfume é descrita em metáforas musicais. A combinação de ingredientes em um perfume é chamada de “composição” e tem três “notas” que se desdobram ao longo do tempo. A primeira nota é chamada nota de topo, ou nota de cabeça, e produz a impressão imediata do perfume. As notas de topo são moléculas pequenas e leves, com alta volatilidade que evaporam rapidamente. As notas do meio (também chamadas notas de coração) emergem pouco antes das notas de topo se dissiparem. Os aromas desta classe de notas aparecem entre dois minutos e uma hora após a aplicação de um perfume. Já as notas de base aparecem enquanto as notas do meio estão desaparecendo. Os compostos desta classe são majoritariamente fixadores usados para segurar e aumentar a força das notas superiores. As notas de fundo são compostas por moléculas grandes que evaporam lentamente e geralmente não são percebidas até cinco horas após a aplicação do perfume. Algumas notas de base ainda podem ser detectadas após 24 horas ou mais de sua aplicação (Herz, 2011; Dias *et al.*, 1996).

Com os avanços da química moderna, antes o que só era possível produzir de maneira natural e rudimentar, atualmente pode ser obtido em laboratórios extremamente equipados. Com isso novas técnicas, novas formulações, novas combinações em grande escala começaram a ser produzidas, surgindo empresas de renomado sucesso (Herz, 2011). Vale ressaltar que os químicos já identificaram cerca de três mil óleos essenciais, em que 150 destes fazem parte importante de muitos perfumes (Dias *et al.*, 1996).

Assim, por todas as razões descritas acima e pelo interesse que a síntese de moléculas aplicadas como fragrâncias têm, utilizamos estes conhecimentos acerca dos perfumes e também das técnicas de química orgânica experimental para a produção de um perfume em conjunto com os acadêmicos dos cursos de Licenciatura e Bacharelado em Química, fazendo a correlação dos conhecimentos para produzir um produto do dia a dia.

METODOLOGIA

Materiais

Todos os solventes e reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico; exceto pelo propileno glicol, grau USP. Vale ressaltar que o fixador de perfume foi obtido comercialmente em lojas especializadas em essências para perfumes, e as placas cromatográficas utilizadas na análise de CCD, foram do modelo F254. A análise espectroscópica foi realizada no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) pelo método de Refletância Total Atenuada (ATR) da marca Perkin-Elmer, na região de 600 a 4000 cm^{-1}, com resolução de 2 cm^{-1}.

Produção de uma essência artificial (benzoato de metila)

Em um balão de 100,0 mL equipado com um condensador de refluxo, foi adicionado 23,00 g (0,19 mol) de ácido benzóico, 4,0 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) e 50,0 mL de metanol (MeOH). Após a adição dos reagentes, a solução foi agitada vigorosamente sob refluxo por aproximadamente 1 h. Após, a solução reacional foi arrefecida a temperatura ambiente, seguida da transferência para um funil de separação de 250,0 mL, em meio básico com 80,0 mL de bicarbonato de sódio 15% ($NaHCO_3$) adicionado em pequenas porções, neutralizando o ácido sulfúrico remanescente. Em seguida a solução reacional foi diluída em 5,0 mL de água destilada e lavada com acetato de etila (3x10,0 mL) (Miyazaki *et al.*, 2016). A fase orgânica separada foi seca com 3,00 g de sulfato de sódio ($NaSO_4$) e concentrada sob vácuo em evaporador rotativo. Foram obtidos 16,30 g (63 %) do produto como um líquido sem coloração; o qual foi analisado por IV (ATR) ν (cm^{-1}): 3072, 2955, 1718, 1601, 1436, 1274, 1110, 707 (Figura 2) (Gupta *et al.*, 2017).

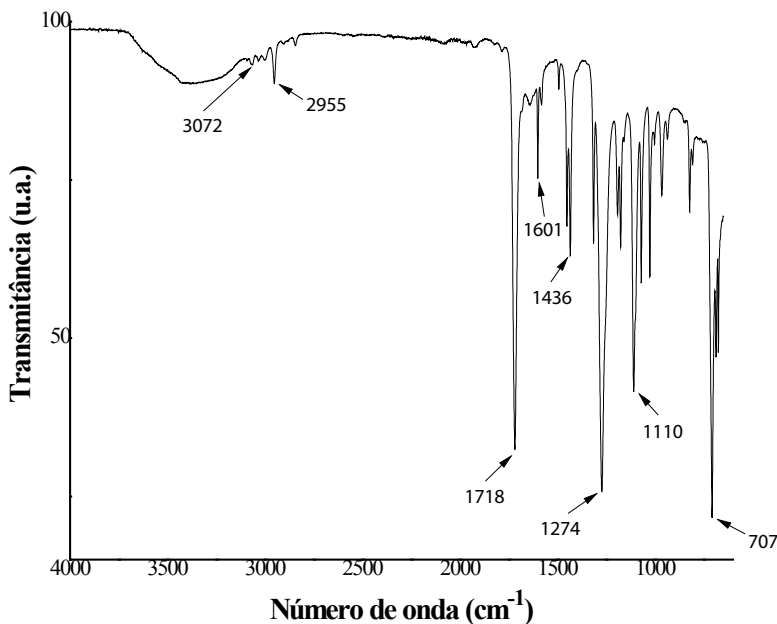



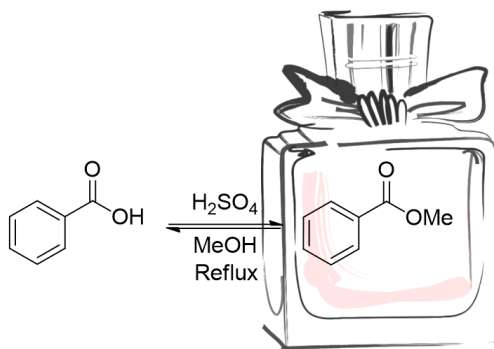
Figura 2. Espectro na região do Infravermelho (IV) para o benzoato de metila com a utilização do módulo de Refletância Total Atenuada (ATR), na região de 600 a 4000 cm-1

Preparo do perfume

Para o preparo do perfume utilizamos o benzoato de metila como essência (Feng *et al*., 2017; FAO, 2019), sendo adicionados 7,6 mL de etanol em um tubo de ensaio de 15,0 mL com tampa, seguido de 1,0 mL da essência preparada, 0,3 mL do fixador de perfumes (disponível comercialmente), seguida da adição de 0,2 mL de propileno glicol (agente emoliente) e por fim da adição de 1,0 mL de água destilada. Em seguida o tubo de ensaio foi fechado e agitado. (Dias *et al*., 1996).

RESULTADOS OBTIDOS

A esterificação de Fischer ou esterificação de Fischer–Speier (1895) (Fischer *et al*., 1895), é conhecida como um tipo especial de esterificação, onde um ácido carboxílico é refluxado com um álcool alifático (primário ou secundário) na presença de um catalisador ácido. Vale ressaltar que a maioria dos ácidos carboxílicos é adequada para a reação de esterificação, em contrapartida quando empregado álcoois terciários na reação, eles tendem a sofrer reações de eliminação, sendo esta uma limitação da metodologia. Com base nesta reação clássica preparamos a essência (benzoato de metila) fundamental para a produção do perfume.

A esterificação do ácido benzoico foi efetuada sem maiores dificuldades, conforme os procedimentos descritos na literatura, indicada no Esquema 1, no qual isolou-se o benzoato de metila, em um rendimento de 63,4 %. Para efeito de comparação, os alunos efetuaram, nesta mesma aula, um procedimento de cromatografia em camada delgada (CCD), comparando a reação realizada com um padrão do benzoato de metila, identificando os fatores de retenção (R_f) (Coskun, 2016). Além da CCD foi possível a caracterização do produto formado pelo método de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

Esquema 1. Reação de esterificação de Fischer–Speier.

Os resultados a seguir, apresentados na Tabela 1, são correspondentes às percepções dos estudantes dos cursos de Licenciatura e Bacharelado em Química por dimensão analisada. Como pode-se observar, os resultados de "Aprendizagem" obtiveram a maior variabilidade de respostas entre os estudantes, se comparados às outras dimensões. Nesse quesito, obteve-se o maior índice de respostas entre "Insuficiente" (23,80 %) e "Suficiente" (19,05 %). Porém, do número total de estudantes, 57,15 % indicaram as respostas "Muito bom" e "Excelente" nessa dimensão. Observa-se também que alguns estudantes, ao final da aula, ainda se sentiam inseguros e ainda não apresentavam familiaridade a respeito do tema e das técnicas aplicadas. A hipótese é que alunos com dificuldade nos conceitos que servem de base para a química orgânica experimental precisam de experiência e estudo a respeito dos conteúdos abordados para assimilar esses conceitos antes do início aula.

Respostas (%)	Aprendizagem	Suporte da Equipe	Avaliação Geral da Aula	Aspectos Pedagógicos
Insuficiente	23,80	0,00	0,00	0,00
Suficiente	19,05	9,52	0,00	19,05
Muito Bom	14,29	80,96	4,76	23,81
Excelente	42,86	9,52	95,24	57,14
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

Tabela 1. Proporção das dimensões avaliadas.

Na dimensão que avaliou o suporte prestado pela equipe, houve uma maior concentração de respostas no quesito “Muito bom” (80,96 %). Quando perguntados sobre a “Avaliação Geral da Aula” e ainda sobre os “Aspectos Pedagógicos”, pode-se observar também que a maioria das respostas convergem para “Excelente”. Entretanto, será preciso dar atenção às respostas da dimensão de aspectos pedagógicos, de modo a promover alterações no material didático, sequência didática e organização do conteúdo. Esta dimensão influenciou diretamente no resultado das demais dimensões. Inclusive reforça-se a hipótese, levantada no parágrafo anterior, de que é preciso reforçar o material didático apresentado, ou mesmo, restringir alunos iniciantes dos cursos de Licenciatura e Bacharelado em Química, que possivelmente não tenham os conhecimentos prévios necessários para assimilar os conceitos abordados. Observando o Gráfico 1, dos percentuais da dimensão que avaliou os aspectos pedagógicos, verifica-se respostas “Muito Bom” e “Excelente” em grande proporção, mas há um grande número de respostas de caráter “Insuficiente” e “Suficiente” em algumas das questões.

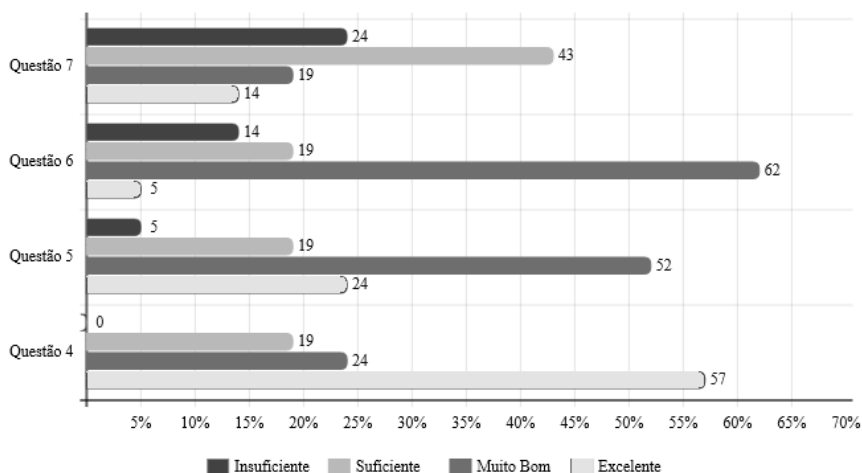



Gráfico 1. Proporção das questões de aspectos pedagógicos.

Nas questões 5 e 7, onde foi avaliado a existência de articulação da teoria com a prática, apenas 61,90% dos alunos responderam como “Suficiente”. Já na questão 6, os alunos foram perguntados sobre o material didático do curso e das técnicas realizadas, se estes apresentavam aprofundamento necessário, e 33,34 % dos alunos concentraram suas respostas em “Insuficiente” e “Suficiente”. Sendo assim, fica evidente a necessidade de aprofundamento do conteúdo e reorganização didática de modo a atender com maior qualidade os alunos. Além disso, os alunos avaliaram de maneira subjetiva as três últimas questões da dimensão “Aspectos Pedagógicos”. A primeira tratou das necessidades de mudanças na aula e sugestões sobre as atividades realizadas. A segunda questão perguntou aos alunos se estes acharam de fácil compreensão as técnicas de laboratório.

Sobre quais mudanças eles realizariam na aula, alguns alunos relataram:

“Dividir melhor o tempo para ter melhor compreensão do assunto”

“Dividir em grupos menores nas bancadas, para todos participarem com maior auxílio”

As falas acima corroboram com as conclusões obtidas a partir das questões objetivas, quanto à necessidade de avaliar os conhecimentos prévios dos alunos com relação ao conteúdo apresentado, além da otimização do tempo disponível para a parte prática e parte teórica.

Entre as respostas que avaliaram as técnicas de laboratório aplicadas, que correlaciona o dia-a-dia dos alunos com os conhecimentos obtidos no curso, especificamente na área de química orgânica experimental, alguns relataram:

“Sim, aborda um produto que é encontrado facilmente no cotidiano”

“Sim, pois, para o nosso ramo, que é a química, o assunto abordado aproxima as técnicas aprendidas com as aplicações industriais”.

Já na terceira e última questão desta dimensão, foi avaliado os conhecimentos dos alunos a respeito das reações orgânicas envolvendo compostos carboxílicos, e consequentemente da catálise ácida. Observamos um contraste entre as repostas obtidas (objetivas e subjetivas), reforçando mais uma vez que há necessidade de avaliar os conhecimentos prévios dos alunos com relação ao conteúdo, além de fazer restrições com respeito aos alunos iniciantes do curso, que ainda não possuem familiaridade com reações orgânicas.

CONCLUSÃO

Em resumo, o presente trabalho cumpre com os objetivos apresentados. Foi possível a realização, com sucesso, das etapas descritas, permitindo discussões acerca dos vários aspectos químicos, inerentes aos trabalhos de síntese orgânica, como reatividade de grupos funcionais, métodos cromatográficos e processos de caracterização espectroscópica, além de uma série de discussões por parte dos alunos, os quais

despertaram um grande interesse sobre as propriedades e fatos históricos dos perfumes. Entretanto, foram identificadas oportunidades de melhorias na aula. Um primeiro ponto que deve ser considerado é a necessidade de avaliar os conhecimentos prévios dos alunos com relação ao conteúdo apresentado, para assim buscar um nivelamento destes. Diante disso, sugere-se a disponibilização de material prévio, para maior aprofundamento do conteúdo. O segundo ponto seria a avaliação do tempo utilizado em aula, o qual é um fator de suma importância para flexibilidade e sucesso da mesma.

AGRADECIMENTOS

A todos os alunos que participaram e que permitiram, com muito entusiasmo, a conclusão do projeto com sucesso. Além disso, os autores agradecem ao Programa de Educação Tutorial de Química (PET-q) e ao SESu/MEC, pelo apoio e oportunidade ao decorrer deste projeto, sobretudo à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por ceder todo o material e infraestrutura laboratorial para a realização do mesmo.

REFERÊNCIAS

Bruice, Y. P.; *Organic Chemistry*. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2003.

Byl, A. S.; Tese de Mestrado, Universidade da África do Sul, África do Sul, 2012.

Classen, C.; Howes, D.; Synnott, A. *Aroma: The Cultural History of Smell*. 1. ed. London: Taylor & Francis, 1994.

Coskun, O. Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul,* 2016. doi: 10.14744/nci.2016.32757.

Dias, M. S.; da Silva, R. R. Perfumes - Uma química inesquecível. *Revista Química Nova na Escola*. n.4, nov. 1996.

FAO. Specifications for Flavourings, Disponível em: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/details/en/c/789/> Acesso em: 06 set. 2019.

Feng, Y.; Zhang, A. A Floral Fragrance, Methyl Benzoate, is An Efficient Green Pesticide. *Sci. Rep,* 2017. doi: 10.1038/srep42168.

Fischer, E.; Speier, A. *Chemische Berichte*, 1895. doi:10.1002/cber.189502803176.

Gupta, K. J.; Mishra, P. Pharmacological screening of some newly synthesized triazoles for H_1 receptor antagonist activity. *Med. Chem. Res.* 2017. doi:10.1007/s00044-017-1928-4.

Herz, R. *Neurobiology of Sensation and Reward*. 1. ed. Chicago: CRC Press: Providence, 2011.

Houlihan, S.; Wotiz, H. J. Women in Chemistry before 1900. *Journal of Chemical Education.* V. 52, p. 362-364, 1975.

Mazzeo, T. J. *O segredo do Chanel nº 5: A história íntima do perfume mais famoso do mundo.* 1. ed. Rio de Janeiro: Rocco, 2012.

Miyazaki, T.; Kasai, S.; Ogiwara, Y.; Sakai, N. Indium-Catalyzed Reductive Sulfidation of Esters by Using Thiols: An Approach to the Diverse Synthesis of Sulfides. *Eur. J. Org. Chem,* 2016. doi:10.1002/ejoc.201501559.

Morie, F. J.; McCallum, K. *Handbook of Research on the Global Impacts and Roles of Immersive Media*. 1. ed. Hershey: IGI Global, 2020.

Sell, C. *The Chemistry of Fragrances: From Perfumer to Consumer*. 2. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2015.

Sinks, T. The Difference Between Perfume, Cologne and Other Fragrances, Disponível em: <https://www.nytimes.com/2018/07/12/smarter-living/differences-perfume-cologne-fragrance.html> Acesso em: 06 set. 2019.

Teixeira, A. M.; Rodrígues, O.; Gomes, P.; Mata, V.; Rodrigues, E. A. *The Chemistry of Perfume Engineering: Design, Performance and Classification*. 1. ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2013.

CAPÍTULO 4

OFICINA PEDAGÓGICA COMO FERRAMENTA DE APRENDIZAGEM DE ASTRONOMIA

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 22/12/2020

Marcelo Monteiro Marques
Colégio Universitário Geraldo Reis
Universidade Federal Fluminense
Niterói-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/0901156985233039

Juliana Pereira da Costa
Universidade Federal Fluminense
Niterói-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/8409073674553076

Rayanne Cristina da Silva Santos
Universidade Federal Fluminense
Niterói-Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/3320559944044455

RESUMO: Este trabalho mostra a elaboração e o uso de oficina pedagógica, como uma estratégia de ensino motivadora para a aprendizagem e discussão dos conceitos de Astronomia, tendo como proposta metodológica, o desenvolvimento de cinco atividades sobre temas relevantes nesse assunto para uma turma de 29 alunos do 9º ano do Ensino Fundamental II do Colégio Universitário Geraldo Reis (COLUNI-UFF). Os resultados evidenciaram a importância e necessidade de se adotar diferentes mecanismos para uma aprendizagem mais significativa em Ciências, como o desenvolvimento de oficina pedagógica, já que a aplicação da mesma mostrou-se bem eficaz na construção de um conhecimento de Astronomia, mais abrangente e sólido, de acordo com o bom desempenho da turma nos questionários e no engajamento da mesma em participar ativamente das atividades propostas.

PALAVRAS-CHAVE: Estratégias de ensino. Atividades Práticas. Astronomia. Oficinas Pedagógicas.

PEDAGOGICAL WORKSHOP AS ASTRONOMY LEARNING TOOL

ABSTRACT: This work shows the elaboration and the use of a pedagogical workshop, as a motivating teaching strategy for the learning and discussion of Astronomy concepts, having as methodological proposal, the development of five activities on relevant themes in this subject for a group of 29 students from 9th grade of Elementary School II at Colégio Universitário Geraldo Reis (COLUNI-UFF). The results showed the importance and need to adopt different mechanisms for a more meaningful learning in Science, such as the development of a pedagogical workshop, since its application proved to be very effective in building a more comprehensive and solid knowledge of Astronomy, according to the good performance of the class in the questionnaires and their engagement in actively participating in the proposed activities.

KEYWORDS: Teaching strategies. Practical Activities. Astronomy. Pedagogical Workshops.

INTRODUÇÃO

A Astronomia é uma das mais antigas ciências visto que, já na pré-história, as

atividades cotidianas poderiam ser relacionadas de acordo com os ciclos estelares. Ela é uma ciência natural que estuda a evolução, a física, a química, a classificação e o movimento de corpos celestes, bem como a formação e o desenvolvimento do universo. Diante disso, a Astronomia é apontada por Mees e Steffani (2005), como tema motivador do ensino de Física no Ensino Fundamental. É uma área da Ciência de caráter interdisciplinar, cujos conteúdos estão presentes em sala de aula, nos programas escolares e livros didáticos e integram o eixo "Terra e Universo", dos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN). Entretanto, apesar de presente em salas de aulas e de instigar a curiosidade, quando o estudo é muito teórico, apresenta-se como uma série de conteúdos de difícil entendimento, o que torna a aula facilmente desmotivante.

De acordo com os PCN (1998), devido à complexidade e alto nível de abstração, as teorias científicas não são passíveis de diálogo direto aos alunos de ensino fundamental, porque são distantes das ideias de senso comum. Faz-se necessário, portanto, a busca por diferentes métodos ativos para estimular e aprimorar o aprendizado em sala de aula, com a utilização de observações e experimentações que permitam despertar o interesse dos discentes pelos conteúdos, bem como enfatizar as relações no âmbito do Universo, as quais não são possíveis estudar apenas em um livro.

Compete ao professor planejar e refletir sobre quais são as melhores abordagens a serem utilizadas para criar um ambiente no qual o aluno possa sentir-se interessado e, para dinamizar a assimilação de conteúdos por parte dele, de forma que haja uma aprendizagem significativa. Segundo Anastasiou e Alves (2004), o docente precisará ser um verdadeiro estrategista, por isso a adoção do termo estratégia, estudar e propor as melhores ferramentas facilitadoras a fim de que os estudantes se apropriem do conhecimento.

Mas o que seria um aprendizado significativo? Segundo Moreira (apud AUSUBEL 1963, p. 58) "[...] a aprendizagem significativa é o mecanismo humano, por excelência, para adquirir e armazenar a vasta quantidade de ideias e informações representadas em qualquer campo de conhecimento." A aprendizagem é significativa quando ela parte de conceitos e experiências, as quais o aluno já possui e quando é capaz de conectar esses conceitos entre si. Portanto, a partir das descrições de Ricardo (2003) e Ausubel (1980, apud ALBINO, 2008), para ocorrer aprendizagem significativa, o educador deve levar em consideração os conhecimentos adquiridos pelo aluno no ambiente externo à sala de aula.

Diante desse cenário, uma das estratégias de ensino capazes de agregar valores ao processo de aquisição de conhecimento e dinamizar a aprendizagem dos alunos no sentido de torná-la mais significativa, é a oficina pedagógica. Segundo Paviani e Fontana (2009), as oficinas possuem como foco uma ação consciente, isto é, sua principal ferramenta é a atividade prática. Elas valorizam a construção de conhecimento de forma participativa e questionadora, com base no cotidiano do discente.

Portanto, pela fundamentação teórica de David Ausubel, que relaciona a questão de materiais representativos e significativos no processo de ensino aprendizagem, propôs-se,

neste trabalho, a discussão dos conceitos da temática Astronomia, em formatos de oficinas, com a intenção de proporcionar uma noção sobre a constituição do Universo, além de incentivar aos alunos a conhecerem mais profundamente este campo do conhecimento.

Desse modo, este trabalho tem como objetivo mostrar o desenvolvimento e a aplicação de uma oficina temática elaborada com enfoque na melhor assimilação do conteúdo de Astronomia, bem como contribuir positivamente para a construção do conhecimento por meio de relações entre professor-aluno e aluno-aluno. É discutida ainda, a importância da oficina pedagógica para os alunos e os resultados nela alcançados.

Portanto, o presente artigo, faz um relato das atividades desenvolvidas na turma de série final do ensino fundamental de um colégio universitário, através da atuação de bolsistas de Iniciação à Docência (ID), do Programa Institucional de Iniciação à Docência - PIBID, beneficiárias do subprojeto Multidisciplinar (Biologia, Ciências, Física, Informática, Matemática, Química), da Universidade Federal Fluminense, município de Niterói/RJ.

PERCURSO METODOLÓGICO

Essa oficina caracteriza-se como sendo uma oficina de cunho qualitativo, onde buscou-se analisar a compreensão e o conhecimento adquirido pelos alunos acerca dos conteúdos, previamente abordados em sala de aula, relacionados à Astronomia e o empenho deles nas atividades da oficina. Esta metodologia considera os pesquisadores elementos do processo de pesquisa e valoriza a obtenção de dados a partir do contato direto deles com a situação estudada, onde se procura entender a perspectiva dos participantes envolvidos na pesquisa (GODOY, 1995). Desse modo, a caracterização dessa oficina tem relação direta com o pesquisador, porque o ensino de astronomia necessita de um mediador, desempenhando este papel fundamental de agente participante da pesquisa.

O presente trabalho foi realizado para os 29 alunos da turma do 9º ano do Ensino Fundamental II do Colégio Universitário Geraldo Reis, o COLUNI-UFF, localizado em Niterói no Rio de Janeiro. A escola nasceu de um convênio da Universidade Federal Fluminense (UFF), assinado em 2006, com o Governo do Estado do Rio de Janeiro, que garantiu a permanência da equipe de professores e funcionários da rede estadual lotados no colégio e, dos alunos do CIEP Geraldo Reis, onde funciona atualmente.

O COLUNI/UFF é uma Unidade Acadêmica vinculada à Pró-Reitoria de Graduação (PROGRAD) e destina-se ao atendimento da demanda de Educação Infantil e de Educação Básica na UFF, bem como possibilita aos estudantes das licenciaturas um espaço de vivência da prática de ensino por meio de estágio supervisionado e projetos de Iniciação à Docência. Ademais, desde dezembro de 2006, a instituição realiza todo ano, sorteio público que assegura o ingresso de crianças e adolescentes de diferentes classes sociais atraídas pelo respaldo e pela chancela da Universidade Federal Fluminense.

Hoje, com turmas de Educação Infantil e de Educação Básica (do 1º ano do

Ensino Fundamental à 3ª série do Ensino Médio), o colégio atende 395 alunos, com funcionamento em horário integral, das 7h30min às 15h. Ele oferece não só refeições balanceadas (desjejum, colação, almoço e lanche) sob a coordenação de uma nutricionista da UFF, como também áreas de estudo e lazer para seus estudantes que incluem por exemplo: biblioteca, quadra de esportes, laboratório de informática, sala de leitura e o laboratório de ensino de ciências da natureza (LECIN). Sendo o último citado, o local de aplicação do projeto, cuja duração transcorreu os dois primeiros tempos de aula, o qual totaliza 1 hora e 30 minutos.

A metodologia envolveu as seguintes etapas: (a) Pesquisa e escolha de atividades que pudessem ser elaboradas para a produção da oficina a ser desenvolvida e sua relação com a Astronomia; (b) Elaboração dos roteiros para cada atividade produzida; (c) Elaboração das atividades a serem desenvolvidas em cada uma das etapas da oficina; (d) Elaboração dos questionários avaliativos; (e) Aplicação da oficina e realização de conversas para a discussão dos conceitos de Astronomia envolvidos; (f) Avaliação da metodologia através da participação e empenho dos alunos durante a realização da oficina e, do desempenho da turma em relação aos questionários; (g) Resultados finais.

Para a oficina, elaborou-se cinco atividades entre maquetes interativas e experiências a fim de exercitar e fixar determinados conceitos de Astronomia vistos previamente em sala de aula. As maquetes interativas foram sobre: As Fases da Lua, As Quatro Estações do Ano e Sistema Solar. Enquanto as experiências foram sobre Peso versus Massa com duas garrafas PET com volumes diferentes (uma cheia e a outra vazia) e sobre “A Roda que Sobe” para o estudo da gravidade.

Na maquete interativa sobre “As Fases da Lua”, abordou-se as quatro fases mais importantes: Lua Nova, Quarto Crescente, Lua Cheia e Quarto Minguante, e como essas são determinadas. Os materiais utilizados na elaboração dessa maquete foram: uma caixa retangular, papel color Set preto para encapar essa caixa, uma bolinha de isopor, lanterna, tintas guache e purpurina.

Na maquete interativa sobre “As Quatro Estações do Ano”, explicou-se como foram divididos estes períodos. Os materiais utilizados foram: placa de isopor, tinta guache, lâmpada com bocal e globo terrestre.

Na maquete interativa “Sistema Solar”, trabalhou-se a ordem da distância dos planetas em relação ao Sol, bem como as características de cada um deles. Os instrumentos foram: placa de isopor, bolinhas de isopor de diferentes tamanhos, tintas guache e fio luz de fada.

Para a experiência “A Roda que Sobe”, definiu-se o conceito de centro de gravidade. E, os objetos utilizados foram: uma tampa de pote, três bolinhas de gude, massinha, quatro elásticos e papelão encapado com papel Color Set para a rampa.

Na experiência “Peso versus Massa”, trabalhou-se a diferença entre os conceitos peso e massa. Duas garrafas pet, uma com bolinhas de gude e outra, vazia, foram utilizadas

para a realização dessa experiência.

A oficina temática contou com três momentos metodológicos. No primeiro momento, dividiu-se a turma em cinco grupos de seis alunos cada e orientou-os a se posicionarem em uma experiência cada. Em seguida, explicou-se de forma sucinta e clara o que iria acontecer na oficina. Estabeleceu-se um tempo de 12 minutos para cada experiência e um sistema de rodízio, para que todos os grupos pudessem participar de todos os trabalhos e responder a todos os questionários. Com o propósito de dar maior autonomia aos alunos, colou-se um roteiro (Anexo) sobre a mesa ao lado de cada atividade, a fim de descrever o manuseio correto dos trabalhos.

Ao dar início à experiência "Fases da Lua", foram necessários dois alunos. O primeiro ficou responsável por segurar a caixa preta na altura dos olhos do segundo aluno, enquanto esse olha através de cada uma das janelas enumeradas. Dando continuidade, para um melhor entendimento dos alunos, a atividade das "Estações do ano" foi realizada com o total auxílio das monitoras. Com relação ao "Desafio do Sistema Solar", os alunos deveriam colocar corretamente os planetas em cada uma de suas órbitas (representadas pelas curvas brancas) levando em conta a sua distância em relação ao Sol.

Na prática "Roda que Sobe", um aluno de cada vez pegou a roda e colocou-a no início da rampa, de modo que as bolinhas ficassem no alto da roda, viradas para o topo da rampa. Em seguida, tinha que soltar a roda e observar o que acontecia. Por fim, a respeito da "Experiência das Garrafas", cada aluno deveria segurar uma garrafa em cada mão, com as mãos esticadas na altura dos ombros, mantendo as garrafas em mesma altura. Em seguida, deveria largar as garrafas ao mesmo tempo em cima do tapete e observar o que acontecia.

Como método avaliativo, ao lado de quatro das cinco experiências, havia um questionário a ser respondido por cada grupo para, em seguida, ser inserido em uma caixinha ao final de todas as atividades. Os quatro tópicos já estudados, os quais tinham questionários foram: Fases da Lua, Estações do ano, Gravidade e Peso versus Massa. O último tópico foi um Desafio do Sistema Solar, o qual consistia no acerto da ordem da distância dos planetas em relação ao Sol. A fim de estimular os alunos, tornando-os mais participativos nas atividades, deu-se uma recompensa aos membros da equipe que acertasse ou chegasse mais perto da ordem exata.

No segundo momento da oficina, foram realizadas as atividades e sanadas as dúvidas, as quais surgiram sobre os conteúdos de Astronomia envolvidos nos experimentos. As atividades foram explicadas, os conteúdos relembrados e todas as questões relativas aos conceitos trabalhos elucidadas. Com o domínio dos experimentos e do conteúdo, os alunos apresentaram muitas questões, conhecimento e curiosidades sobre o tema.

No último momento da oficina, os alunos terminaram de responder os questionários avaliativos para análise da eficácia, da estratégia empregada e a metodologia utilizada foi amplamente discutida com eles, de modo a melhorias futuras para a construção de uma

nova oficina. Os resultados finais foram apresentados durante o II Simpósio de Educação Básica do COLUNI-UFF em setembro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido ao perfil da escola, a qual recebe alunos com diferentes classes sociais, buscaram-se trabalhar além dos conteúdos de Astronomia, a inserção de novas estratégias e ferramentas de ensino-aprendizagem, as quais poderiam proporcionar a construção do conhecimento a partir de temas motivadores do cotidiano. A oficina aplicada aos alunos do 9º ano do Ensino Fundamental teve por finalidade avaliar dois pontos cruciais. O primeiro referente ao engajamento e contribuição dos estudantes no andamento da oficina de astronomia e, o segundo, no rendimento dos questionários avaliativos preparados pelas autoras.

O conteúdo de cada questionário (Figura 1) foi dividido de acordo com os tópicos abordados nas maquetes e nas experiências do projeto, dentre os quais estão: as fases da lua, as quatro estações do ano, peso versus massa e gravidade. Ademais, as perguntas foram intercaladas no formato de questões discursivas e de múltipla escolha. Após o término da oficina, recolheu-se a urna que continha todas as respostas dos cinco grupos e, fez-se uma avaliação.

FASES DA LUA - Perguntas:

1. De acordo com os números de cada janela, escreva abaixo a fase da lua correspondente:

1) ____________ 3) ____________

2) ____________ 4) ____________

2. Por que a Lua apresenta fases?

( ) Porque enquanto gira ao redor da Terra ela é iluminada pelo Sol.
( ) Porque enquanto gira ao redor da Terra ela entra na sombra da Terra.
( ) Porque enquanto gira ao redor da Terra ela entra na sombra do Sol.

3. Quando a Lua cobre inteiramente o Sol (um eclipse) é porque necessariamente sua fase é? R: ____________.

4. Passados cerca de 15 dias da Lua Nova, dizemos que a Lua está em oposição ao Sol, ou seja, a Terra está entre a Lua e o Sol, neste caso sua fase é?
R: ____________.

5. Sobre a Lua, só é **incorreto** afirmar que:
( ) As partes escuras da Lua são antigas planícies de lava.
( ) A Lua não apresenta movimento de rotação.
( ) A Lua é o corpo celeste mais próximo da Terra.

ESTAÇÕES DO ANO - Perguntas:

1. Qual é o nome do movimento que a Terra realiza ao redor do Sol?
R:____________.

2. Qual é a principal razão para a existência das estações do ano?
R:____________.

3. Assinale a única afirmação correta:
( ) Cada planeta do Sistema Solar tem o mesmo número de estações que a Terra.
( ) Cada hemisfério da Terra apresenta a mesma estação.
( ) Solstícios ocorrem na primavera e no outono.
( ) Se o eixo de rotação da Terra não fosse inclinado, não haveria mudança de estações.

4. Quanto tempo a Terra leva para realizar uma volta completa ao redor do Sol?
R:____________.

5. O início de cada estação é definido por dois fenômenos astronômicos: o solstício e o equinócio. Sabendo disso, qual é o nome dado aos dois dias por ano em que a duração do dia é a mesma da noite?
R:____________.

6. Durante qual estação do ano a duração do dia fica mais curta do que a noite?
R:____________.

Figura 1 - Exemplo dos questionários avaliativos realizados

Em termos quantitativos, a turma alcançou um bom desempenho nos questionários realizados. Este cálculo resultou de duas médias aritméticas. A primeira foi feita em cima de cada aluno, sendo:

$$\textbf{MÉDIA DO ALUNO} = \frac{\text{somatório das notas obtidas nos questionários}}{\text{número de questionários}}$$

E, em seguida, uma média aritmética da turma, a qual:

$$\textbf{MÉDIA DA TURMA} = \frac{\text{somatório das médias de cada um dos alunos}}{\text{número de alunos}}$$

Desta forma, obteve-se a nota final 8,0/10,0. Valor este acima da média, indicando assim que a turma adquiriu um vasto conhecimento acerca dos assuntos propostos na oficina.

Outro método que serviu de avaliação para os alunos foi “O desafio do Sistema Solar”. Nesta gincana, os alunos tinham dois objetivos: acertar a ordem da distância dos planetas em relação ao Sol - utilizando a maquete como ferramenta auxiliadora - e, paralelamente, executavam um jogo onde eles associavam as imagens dos planetas as suas respectivas características.

Assim como o questionário, o desafio do sistema solar atendeu as expectativas, onde foi possível premiar dois grupos que gabaritaram o jogo enquanto os outros grupos, erraram por apenas um planeta. Novamente, demonstrando que a turma dominava o assunto referente à astronomia.

Em termos qualitativos, as autoras puderam perceber inicialmente um certo estranhamento por parte dos alunos na sua própria independência em conduzir a aula utilizando apenas os roteiros. Porém, aos poucos passaram a transparecer interesse na medida em que faziam perguntas ou até mesmo traziam outras curiosidades sobre o tema.

Acredita-se que, a indagação inicial se deu, pois o modelo mais conhecido e praticado nas instituições de ensino é aquele em que o aluno acompanha a matéria lecionada pelo professor por meio de aulas expositivas, com aplicação de avaliações e trabalhos. Esse método é conhecido como passivo, pois nele o docente é o protagonista da educação.

Por outro lado, a metodologia ativa, como por exemplo na forma de oficinas, coloca o aluno como personagem principal e o maior responsável pelo seu processo de aprendizado. Enquanto o docente atua como mediador entre o conhecimento e os alunos, estimulando a interação e ajudando nas dificuldades. O professor ocupa essa posição pelo seu vasto domínio e experiência sobre o tema que leciona.

Como já dito anteriormente, a oficina pedagógica foi organizada em grupos. A partir desta dinâmica, os alunos tiveram a oportunidade de exercitar dois aspectos extremamente importantes: o trabalho em equipe e a competitividade saudável.

O trabalho em equipe na escola é uma excelente ferramenta para a formação social do estudante a medida em que é aplicada de forma lenta e contínua. De acordo com Vygotsky, dentre as vantagens do aprendizado em coletivo estão o aperfeiçoamento: na capacidade de debater ideias, na prática de ser ouvinte, do respeito à diversidade de

opiniões, na construção do conhecimento em conjunto, etc.

A fim de estimular os alunos, tornando-os mais participativos nas atividades, como recompensa do acerto da ordem da distância dos planetas em relação ao Sol na última atividade “Sistema Solar”, uma recompensa foi dada aos membros do grupo. Isto fez com que os membros de cada equipe se unissem ainda mais para vencer o desafio e, por consequência, uma competição entre eles mesmos para ver quem ganharia o brinde. O incentivo a competitividade pode ser prejudicial para os alunos ao passo em que se ultrapassa o limite da disputa saudável e tornar-se uma obsessão por vitória. Contudo, se for posto em prática de forma equilibrada, colabora para o desenvolvimento pessoal do aluno, cooperação, empatia, solidariedade além de estimular autoconfiança e autoestima.

Portanto, o desenvolvimento de uma oficina pedagógica que se diferencie de uma aula tradicional caracteriza-se como uma estratégia do fazer pedagógico, onde o espaço de construção e reconstrução do conhecimento são as principais ênfases pois, esse tipo de estratégia possui um enorme potencial pedagógico quando usado com sabedoria.

Figura 2 - Discentes manuseando as maquetes e as experiências com o auxílio das licenciandas

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As autoras ficaram satisfeitas com o trabalho realizado, tendo em vista que as práticas foram realizadas com sucesso e, foi possível despertar curiosidade nos alunos sobre os tópicos abordados no conteúdo de astronomia.

Presume-se que, a quebra na rotina do estudante através de uma oficina pedagógica

foi o principal fator para o desempenho satisfatório deste projeto. Ao passo em que, a substituição da aula tradicional por uma mais dinâmica pode explorar diferentes áreas através de: atividades integradoras, trabalhos em grupo e exercícios para expandir o conhecimento dos alunos.

Conforme Schulz apud Viera e Volquind (2002, p. 11) a oficina pedagógica se caracteriza como sendo "um sistema de ensino-aprendizagem que abre novas possibilidades quanto à troca de relações, funções, papéis entre educadores e educandos", o que é essencial no caso da escola pública, cuja cultura precisa ser valorizada para o início das necessárias articulações entre os saberes populares e os saberes científicos (MOITA; ANDRADE, 2006, p. 11).

Ademais, a introdução de ferramentas facilitadoras para o aperfeiçoamento didático neste projeto torna-se essencialmente vantajosa, sobretudo no que se refere ao ensino de ciências e à apropriação do conhecimento. A ciência proporciona a busca de respostas a diferentes questionamentos a respeito do mundo ao nosso redor, além de viabilizar a criação de leis e teorias a fim de explicar o Universo por meio de experiências científicas.

Dentre a infinidade de áreas existentes na ciência, optou-se pelo estudo do tema astronomia que apesar de gerar curiosidade nos alunos, não é um assunto tão debatido e estudado nas escolas. Os discentes passam, então, a interpretar de forma diferente o conhecimento e a ver a prática das Ciências como uma atividade divertida.

Vale ressaltar que, a oficina foi posta em prática após aulas expositivas sobre o tema, servindo assim como uma aula lúdica de revisão e avaliação do conteúdo já abordado. Tal ponto, colaborou para um melhor desempenho dos alunos nos questionários realizados, bem como a participação e dedicação total por parte dos mesmos com a oficina pedagógica.

Da mesma forma que o pensador Gerson Alan e Nelson Mandela, nós, futuras professoras e autoras deste trabalho, levantamos a bandeira de que "a educação seja o pilar de sustentação de uma sociedade" e "a educação é a arma mais poderosa para mudar o mundo". Assim, por termos esta convicção, concordamos e seguimos adiante na produção de oficina sobre Astronomia. Oficina esta que foi extremamente satisfatória. O interesse dos estudantes bem como os resultados positivos do trabalho, foram os fatores cruciais para nós mesmas no que se refere em dar continuidade a novos projetos voltados para a educação e, a trilhar nossos caminhos na licenciatura para incentivar a busca por conhecimento, estimular o senso crítico e fazer a diferença na vida dos alunos, de modo que eles consigam enxergar possibilidades onde o mundo inteiro disse não existir.

AGRADECIMENTOS

À Capes e ao Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência (PIBID). Bem, à direção e aos alunos do Colégio Universitário Geraldo Reis.

REFERÊNCIAS

ALBINO, C.; LIMA, S. A. de. A aplicação da teoria da aprendizagem significativa de Ausubel na prática improvisatória. **Opus**, Goiânia, 2008, v. 14, n. 2, p. 115-133, dez. 2008.

ANASTASIOU, L. G. C.; ALVES, L. P. Estratégias de ensinagem. *In*: ANASTASIOU, L. G. C.; ALVES, L. P. **Processos de ensinagem na universidade: pressupostos para as estratégias de trabalho em aula**. 3. ed. Joinville - SC: Editora UNIVILLE, 2004. cap. 3, p. 67-100.

BRASIL. Ministério da Educação e do Desporto. Secretaria de Educação Fundamental. **Parâmetros Curriculares Nacionais**: Ciências Naturais (3º e 4º ciclos do Ensino Fundamental). Brasília: MEC/SEF, 1998. Disponível em: http://portal.mec.gov.br/seb/arquivos/pdf/ciencias.pdf. Acesso em: 22 abr. 2020.

DE MELO, C. E. Metodologias Ativas de Ensino e Aprendizagem no Curso de Direito: Breves Relatos da Experiência na Faculdade Ages. **Revista de Graduação USP**, v. 3, n. 2, p. 107-112, 4 jul. 2018.

DE SOUZA, V. A. **Oficinas pedagógicas como estratégia de ensino: uma visão dos futuros professores de ciências naturais**. 2016. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Naturais) - Universidade de Brasília, Planaltina-DF, 2016.

EQUIPE EDUCAMUNDO. Trabalho em equipe na escola: como usar a técnica de forma lúdica. **EDUCAMUNDO**. 10 jul. 2019. Disponível em: https://www.educamundo.com.br/blog/trabalho-equipe-escola. Acesso em: 22 abr. 2020.

GODOY, A. S. Introdução à pesquisa qualitativa e suas possibilidades. **Revista de Administração de Empresas**, São Paulo v. 35 , n. 2, p. 57-63, mar./abr. 1995.

MEES, A. A.; STEFFANI, M. H. Astronomia: motivação para o ensino de Física na 8ª série. *In*: Simpósio Nacional de Ensino de Física (SNEF), 16., 2005, Rio de Janeiro. **Anais** [...]. São Paulo: Sociedade Brasileira de Física, 2005. Trabalho 105-1. Disponível em: http://www.sbf1.sbfisica.org.br/eventos/snef/xvi/cd/resumos/t0105-1.pdf. Acesso em: 22 abr. 2020.

MOITA, F. M. G. S. C; ANDRADE, F. C. B. O saber de mão em mão: a oficina pedagógica como dispositivo para a formação docente e a construção do conhecimento na escola pública. In: Reunião Anual da Anped, 29., 2006, Minas Gerais. **Resumos** [...]. Rio de Janeiro: ANPEd - Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Educação, 2006. Trabalho GT06 - 1671. Disponível em: http://www.anped.org.br/sites/default/files/gt06-1671.pdf. Acesso em: 22 abr. 2020.

MOREIRA, M.A. **Aprendizagem significativa crítica**. Porto Alegre: Ed. do Autor. 2010, 24 p. Disponível em: http://www.if.ufrgs.br/~moreira/apsigcritport.pdf. Acesso em: 22 abr. 2020.

PAVIANI, N. M. S; FONTANA, N. M. Oficinas pedagógicas: relato de uma experiência. **Conjectura: Filosofia e Educação**, Caxias do Sul, v. 14, n. 2, p. 77-88, maio/ago. 2009.

PINTO, Diego. Metodologias Ativas de Aprendizagem: o que são e como aplicá-las. **Blog Lyceum**. Disponível em: https://blog.lyceum.com.br/metodologias-ativas-de-aprendizagem/. Acesso em: 22 abr. 2020.

RICARDO, E. C. Implementação dos PCN em Sala de Aula: Dificuldades e Possibilidades. **Física na Escola**, v. 4, n. 1, p. 8-11, maio 2003. Disponível em: http://www.sbfisica.org.br/fne/Vol4/Num1/a04.pdf. Acesso em: 22 abr. 2020.

VIEIRA, E; VOLQUIND, L. **Oficinas de ensino: O quê? Por quê? Como**. 4. ed. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2002.

MATERIAL SUPLEMENTAR

ROTEIRO PARA A OFICINA DE ASTRONOMIA:

- **TÍTULOS:**

AS FASES DA LUA - ROTEIRO

Para esta experiência serão necessários dois alunos. O primeiro aluno ficará responsável por segurar e girar a caixa preta na altura dos olhos do segundo aluno, na medida em que este olha através de cada uma das janelas enumeradas.

ESTAÇÕES DO ANO - ROTEIRO

Essa experiência será realizada com o total auxílio das monitoras, para um melhor entendimento dos alunos.

DESAFIO DO SISTEMA SOLAR - ROTEIRO

Os alunos deverão colocar corretamente os planetas em cada uma de suas órbitas (representado pelas curvas brancas) levando em conta a sua distância em relação ao Sol.

RODA QUE SOBE - ROTEIRO

Um aluno de cada vez deverá pegar a roda e colocar no início rampa, de modo que as bolinhas fiquem no alto da roda, viradas para o topo da rampa. Em seguida, deverá soltar a roda e observar o que acontece.

EXPERIÊNCIA DAS GARRAFAS - ROTEIRO

Cada aluno deverá segurar uma garrafa em cada mão, com as mãos esticadas na altura dos ombros, mantendo as garrafas em mesma altura. A seguir, deverá largar as garrafas ao mesmo tempo em cima do tapete e observar o que acontece.

CAPÍTULO 5

A NANOTECOLOGIA NA LUTA CONTRA O CÂNCER: UMA REVISÃO

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 06/12/2020

Angélica de Brito Sousa
Universidade Federal do Piauí
Teresina-PI
http://lattes.cnpq.br/8807129866845431

Jéssica Randel da Silva Alves
Universidade Federal do Piauí
Teresina-PI
http://lattes.cnpq.br/2824042189079183

Darlisson Slag Neri Silva
Universidade Federal do Piauí
Teresina-PI
http://lattes.cnpq.br/1313498046971244

Juracir Francisco de Brito
Universidade Federal do Piauí
Teresina-PI
http://lattes.cnpq.br/3657981062106189

Nelson Nunes da Silva Lopes Júnior
Universidade Federal do Piauí
Teresina-PI
http://lattes.cnpq.br/8023012945112103

RESUMO: Este trabalho é uma revisão de literatura focada na nanotecnologia e suas estratégias para combater a resistência das células cancerígenas a medicamentos. Devido ao crescente interesse da academia e da indústria no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de doenças, as estratégias da nanociência e nanotecnologia surgem como uma ferramenta poderosa no combate ao câncer. Nesse artigo apresenta-se um panorama geral de vários nanomateriais utilizados nos sistemas de liberação de fármacos, além dos mecanismos de resistência das células tumorais a medicamentos e nanosistemas utilizados para combater a progressão do câncer e os meios de resistência das células tumorais.
PALAVRAS-CHAVE: Câncer. Resistência a medicamentos. Nanosistemas. Nanomateriais.

NANOTECHNOLOGY IN THE FIGHT AGAINST CANCER: A REVIEW

ABSTRACT: This work is a review focused in nanotechnology and its strategies to combat cancer cell resistance to drugs. Due to the growing interest of academia and industry in the development of drugs to treat diseases, nanoscience and nanotechnology strategies appear as a powerful tool in the fight against cancer. This article presents an overview of various nanomaterials used in drug delivery systems, in addition to the mechanisms of tumor cell resistance to drugs and nanosystems used to combat the progression of cancer and the means of resistance of tumor cells.
KEYWORDS: Cancer. Drug resistance. Nanosystems. Nanomaterials.

1 I INTRODUÇÃO

O câncer tem se tornado ao longo dos anos um problema de saúde pública mundial. Existe um elevado número de pessoas que morrem em decorrência de algum tipo de

câncer. As principais terapias para o tratamento do câncer, incluem cirurgias, quimioterapia e radioterapia. No entanto, esses tratamentos provocam uma grande quantidade de efeitos colaterais aos indivíduos que se submetem ao tratamento. Dentre essas três formas de terapia, a quimioterapia é um dos principais modos de tratamento do câncer, no entanto é um método limitado, por conta dos mecanismos de resistência a medicamentos (WADHAWAN; CHATTERJEE; SINGH, 2019; VASCONCELOS *et al*., 2019).

Nos últimos anos, a nanotecnologia vem se destacando como um dos principais focos de atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em diferentes áreas de conhecimento (EMIRICH; THANOS, 2003; MODY *et al*., 2014). Ela é considerada uma ciência multidisciplinar, pois inclui profissionais das áreas de Ciências de Materiais, Engenharia, Farmácia, Biologia, entre outros, trabalhando juntos pela necessidade de partilhar o conhecimento sobre ferramentas e técnicas nessa nova fronteira científica (MOEENDARBARI *et al*., 2016). A área da nanotecnologia especializada no uso de materiais em nanoescala ou nanoestruturados em medicina é denominada nanomedicina (WEISSIG; GUZMAN-VILLANUEVA, 2015). Todas as características da nanomedicina dependem do progresso na pesquisa de nanomateriais e da nanoengenharia, essencial para criar dispositivos que reconheçam suas aspirações (YOUNGREN *et al*., 2013).

A nanomedicina é uma ferramenta imprescindível no desenvolvimento de nanosistemas para combater a progressão do câncer e também a resistência a medicamentos. Os novos sistemas que têm sido produzidos utilizado estratégias da nanociência e nanotecnologia tem oferecido diversas vantagens, quando comparado com os métodos tradicionais (NAVYA *et al*., 2019).

Ao longo dos anos, têm havido um crescente desenvolvimento no processo de administração de medicamentos baseado nas estratégias nano, uma vez que esses sistemas, promovem o transporte eficiente dos medicamentos através das barreiras biologicas, direcionamento até o alvo e liberação de forma controlada o medicamento. Os nanosistemas desenvolvidos para o combate a progressão do câncer são diversos, entre eles, incluem lipossomas, micelas, nanoconchas e nanopartículas metálicas. Esses nanomateriais são constantemente desenvolvidos para que haja uma administração eficaz dos medicamentos, controlando o tamanho e a forma desses materiais, pois são elas as principais características responsáveis por suas funcionalidades (NAVYA *et al*., 2019).

Desse modo, a utilização de nanosistemas para combater os mecanismos de resistência e melhorar a ação anticâncer de alguns medicamentos têm se tornando uma ferramenta muito útil para combate dessa doença, uma vez que a terapia do câncer provoca ao longo do tratamento diversos mecanismos de resistência (HOLOHAN *et al*., 2013). Dessa forma, este trabalho tem como objetivo mostrar um panorama geral sobre a nanotecnologia e o desenvolvimento de nanomateriais para o combate a progressão do câncer, além disso mostrar os principais mecanismos de resistência a medicamentos e as estratégias utilizadas para combater essa resistência.

2 | NANOSISTEMAS E O COMBATE AO CÂNCER

2.1 Sistemas de liberação de fármacos

O método convencional de administração de medicamentos apresenta limitações por não haver qualquer controle da liberação, visto que o fármaco é liberado imediatamente após a administração. Nesse método a concentração da droga na corrente sanguínea aumenta para chegar no nível terapêutico até atingir o nível máximo de absorção e então declina, sendo necessário outras doses (SHI, J. *et al.*, 2010). A eficácia de alguns medicamentos pode diminuir com uso continuado, bem como elevadas concentrações, acima da faixa terapêutica, podem levar à toxicidade e efeitos colaterais, enquanto concentração subterapêuticas são ineficazes e em alguns casos podem causar resistência à droga. Já na liberação controlada, o fármaco é liberado gradativamente e mantém-se na faixa terapêutica por tempo prolongado utilizando-se uma dosagem única (SHI *et al.*, 2010; KALEPU; NEKKANTI, 2015).

A entrega eficiente de nanomateriais para os tecidos alvo pode ser classificada em dois tipos: segmentação passiva, método em que os nanomateriais contendo fármacos anticâncer são injetados comumente pela via intravenosa e se acumulam nos interstícios dos tecidos tumorais, aumentando assim o efeito de permeabilidade e retenção (EPR) (NAVYA *et al.*, 2019; MAEDA; NAKAMURA; FANG, 2013; JAIN; STYLIANOPOULOS, 2010). E na segmentação ativa, que têm como característica ser mediada por ligantes, podendo ocorrer por diversos tipos de interações moleculares, como receptor ligante, por cargas ou substratos, facilitando o reconhecimento, retenção e internalização pelas células alvo, que resulta numa entrega da droga mais eficaz (NAVYA *et al.*, 2019; BERTRAND *et al.*, 2014).

2.2 Nanomateriais como plataforma de entrega de medicamentos

2.2.1 Nanocarreadores inorgânicas

Essa classe de sistemas de liberação de fármacos vem se desenvolvendo nas últimas décadas pelas vantagens que apresenta, como tamanho e morfologia controláveis, propriedades físico-químicas, modificação da superfície dentre outros. Dentre os nanomateriais inorgânicos, nanopartículas metálicas e magnéticas, bem como as nanopartículas de sílica são as que mais se destacam, como será explicado a seguir (NAVYA *et al.*, 2019).

Nos últimos anos o interesse em nanopartículas metálicas, bem como as superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONs) vem crescendo no meio científico como ferramenta nas aplicações biomédicas. O SPION carregado com medicamento pode se concentrar em uma região-alvo por meio de um campo magnético externo aplicado (JEON *et al.*, 2016; MUSTAPIĆ, *et al.*, 2016). Essas nanopartículas possuem elevada área superficial, baixa toxicidade, propriedades magnéticas e facilidade de obtenção, no entanto

sua ação é limitada devido a fácil aglomeração (SINGH *et al.*, 2012). Estas deficiências podem ser sanadas a partir da modificação de sua superfície com agentes que estabilizam e ao mesmo tempo funcionalizam, dando ao sistema um caráter multifuncional, gerando ou potencializando propriedades e características desses materiais (SINGH *et al.*, 2012; JAFARZADEH *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 2015; FENG et al., 2016; WANG *et al.*, 2013).

As nanopartículas de sílica mesoporosas (MSN) são excelentes candidatos para o carreamento de drogas, devido à sua estrutura e possível funcionalização da superfície, bem como podem ter tamanho de poros e partículas facilmente ajustáveis durante sua preparação. Além disso, as MSN podem ter o efeito de permeabilidade e retenção aprimorado, permitindo sua entrada em tumores, são biocompatíveis, tornando-as viáveis contra o câncer (WATERMANN; BRIEGER, 2017).

De Oliveira e colaboradores (2016) encapsularam a curcumina, um composto natural, insolúvel em água, mas que apresenta diversas ações biológicas como atividade antioxidante, antitumoral, dentre outros. Para isso, encapsularam a curcumina em nanopartículas de sílica aminofuncionalizadas e modificadas com grupos folatos (ligante alvo) posteriormente por meio de ligações amida. O sistema CCM/SiO_2-FO foi eficaz contra células cancerígenas PC3 em comparação com células normais PrEC, além de alcançarem e matarem simultaneamente células cancerígenas da próstata, enquanto exibiram pouca toxicidade às células normais (OLIVEIRA *et al.*, 2016)

2.3 Nanomateriais orgânicos

Os sistemas de administração de fármacos por meio de nanomateriais orgânicos apresentam diversas vantagens, como biocompatibilidade e biodegradabilidade (DAIMA *et al.*, 2018), baixa toxicidade, dentre outros, bem como a utilização de diversas plataformas, como lipossomas, nanopartículas poliméricas, dendrímeros e micelas (NAVYA *et al.*, 2019), que protegem o fármaco contra a degradação, asseguram a liberação controlada, aumentam a biodisponibilidade e reduzem os efeitos colaterais (ELOY *et al.*, 2014).

Um exemplo da utilização de lipossomas como nanocarreador é descrito por Zhang *et al* (2018), que prepararam um conjugado de ácido polissialico (PSA)-polietilenoglicol (PEG), decoraram lipossomas carregados com epirrubicina (EPI), e comprovaram que EPI-PSL exibia atividade citotóxica e biodistribuição nos tumores superior ao EPI-PL, demonstrando sua eficácia antitumoral (ZHANG *et al.*, 2018).

Quanto às nanopartículas poliméricas, uma classe que está despertando interesse na comunidade científica na área de administração de medicamentos são as nanopartículas de micelas poliméricas. Em um trabalho recente, Hanafy *et al* (2018) sintetizaram LY2157299 (LY) carreadas em nano-micelas híbridas biodegradáveis de ácido poliacrílico e poligalacturônico. LY é uma molécula pequena que inibe o TGFβ para o tratamento de células cancerígenas do carcinoma hepatocelular e com isso, o reconhecimento anti-imune, bem como a capacidade de evitar o pH ácido do trato gastrointestinal e o pH alcalino do

cólon, foram possíveis por meio da otimização do novo transportador “nano-elástico”, e a eficácia, captação e direcionamento contra uma linha celular de carcinoma hepatocelular (HLF) foram demonstradas (HANAFY *et al*., 2018).

Os dendrímeros também estão ganhando atenção significativa como os sistemas de liberação de fármacos de sua alta biocompatibilidade, boa solubilidade em água e sua entrada por endocitose (MIGNANI *et al*., 2018). Em um trabalho que exemplifica isso, prepararam um conjugado dendrímero de poli (amidoamina) funcionalizado com biotina e biotina para direcionamento ativo do paclitaxel (PTX, fármaco pouco solúvel) no câncer. Notou-se que o conjugado G4 PTX PEG-Biotina demonstrou maior citotoxicidade e inibição do crescimento tumoral em comparação com o conjugado livre PTX e G4 PTX, demonstrando a possibilidade de aplicações biomédicas (ROMPICHARLA *et al*., 2019).

3 I RESISTÊNCIA A MEDICAMENTOS

3.1 Panorama geral

O processo de resistência a determinados medicamentos, refere-se ao fato de que as doenças desenvolvem um mecanismo de resistir aquele remédio, fazendo com que haja uma diminuição da eficiência desse tratamento na produção de efeitos terapêuticos (NIKOLAOU *et al*.,2018; HOUSMAN *et al*., 2014). Os primeiros relatos do termo resistência, advém da existência de bactérias resistentes a antibióticos, no entanto, além de infecções por bactérias diversas outras doenças ao longo dos anos adquiriram resistência tanto a medicamentos quanto a determinados tratamentos, incluindo o câncer (HOUSMAN *et al*., 2014).

No caso do câncer, a resistência a medicamentos é um processo altamente complexo, que advém da alteração de seus alvos. No decorrer do tratamento do câncer o indivíduo pode se tornar resistente a um determinado medicamento, no entanto, existem casos em que o indivíduo se torna resistente a dois ou mais, nesse caso, configura-se uma forma de resistência a múltiplos medicamentos (MDR). Algumas formas ou métodos de resistência são específicas do tipo de doença, porém existe aqueles que são conservados evolutivamente (MANSOORI *et al*., 2017).

A resistência a medicamentos é um problema enfrentado frequentemente por indivíduos com câncer, isso ocorre, pois, os cânceres apresentam uma notável capacidade de resistir a diversos tratamentos, isso pode se decorrente de uma grande quantidade de fatores, que incluem mutações ou alterações genéticas, alteração no metabolismo do medicamento e diversos outros mecanismos celulares (MANSOORI *et al*., 2017; PETERS, 2018).

Existem diversos exemplos de mecanismos de resistência a agentes citotóxicos no combate ao câncer, um exemplo é o caso da utilização de agentes, tais como: doxorrubicina e etoposídeo para inibição da topoisomerase II em diversos tipos de câncer, como linfoma,

leucemia e câncer de pulmão em que as células cancerígenas adquirem resistência devido fatores como a mutação na topoisomerase II e diminuição da apoptose celular, por conta de mutações sofridas na proteína p53 (HOLOHAN *et al*., 2013; FARMER *et al*., 2005; BUGG *et al*., 1991).

3.2 Resistência intrínseca e adquirida a medicamentos

As terapias utilizadas no tratamento câncer em sua maior parte podem passar pelo processo de resistência. O processo de resistência das células cancerígenas a quimioterapia e ou outros tipos de terapias direcionadas pode ser de dois tipos, a resistência intrínseca que ocorre quando um indivíduo ou grupo de pacientes não respondem a terapia, e a resistência adquirida, tipo de resistência em que o paciente em tratamento se torna resistente durante a terapia. Algumas das causas da resistência podem estar relacionadas ao hospedeiro, na forma de variações genéticas, ou ao tumor, que inclui a diminuição na concentração do medicamento no organismo e alteração no alvo que o medicamento deve combater. Sendo importante destacar que esses dois tipos de resistência podem coexistir durante o tratamento do tumor (VASCONCELOS *et al*., 2019).

As principais causas da resistência intrínseca residem nas mutações genéticas preexistentes na maior parte dos tumores, na heterogeneidade do tumor e na ativação de vias usadas como defesa. A resistência intrínseca é uma forma de resistência que pode estar presente no tumor antes mesmo da aplicação da terapia, por conta das variações genéticas que o tumor sofre, uma vez que as células tumorais estão em constante evolução para evitar a resposta antitumoral. Existe casos em que o indivíduo começa a responder bem a terapia, no entanto ao longo do tratamento ocorre uma diminuição do efeito do medicamento, sendo nesse caso um mecanismo de resistência adquirida. Essa resistência é proveniente de fatores, tais como: alterações no microambiente tumoral (TME), mutações nos alvos da droga e dentre outros (WANG; ZHANG; CHEN, 2019; SALEH; ELKORD, 2019).

3.3 Mecanismos de Resistência a Medicamentos

3.3.1 Heterogeneidade tumoral e microambiente tumoral

Além da heterogeneidade de pacientes, os tumores também apresentam um caráter heterogêneo, o que é capaz de provocar mecanismos de resistência. A heterogeneidade do tumor pode ser dividida em níveis, sendo eles: heterogeneidade na progressão do tumor, genética, metabólica e do tipo celular. Por conta dessa variação no tumor, isso dificulta em muito o tratamento e morte de todas as células cancerígenas por conta de sua alta complexidade. Alguns fatores intrínsecos, como a heterogeneidade proteômica, fatores epigenéticos e extrínsecos, como pH, hipóxia e interações de sinalização entre células tumorais influem diretamente na resistência a medicamentos (WANG; ZHANG; CHEN, 2019).

Em um mesmo tumor é possível a existência de células com composição diferentes, em que a utilização de medicamentos pode promover a morte de algumas células enquanto outras com variações genéticas, menos susceptíveis ao tratamento sobrevivam. Essas células sobreviventes podem se proliferar e provocar o surgimento de um tumor resistente ao tratamento inicial. Além da heterogeneidade em um grupo de células, essas células podem "transferir" esse mesmo efeito de resistência para células sensíveis ao tratamento anticâncer (HOUSMAN *et al*., 2014)

As alterações no microambiente tumoral são consideradas como uma das formas de resistência que impedem que o indivíduo se cure de diversos tipos de câncer e também um dos mecanismos de reincidência do câncer. O microambiente tumoral inclui células imunes, moléculas de sinalização, células estomacais normais, matriz extracelular e citocinas, partes vitais para o desenvolvimento e crescimento do tumor. Quando o indivíduo passa pelo tratamento, alterações que ocorrem nas células do microambiente tumoral podem ser fatores em potenciais de resistência, fazendo com que haja uma reincidência do tumor. Um outro fator que promove a resistência é a própria heterogeneidade do microambiente tumoral, essa heterogeneidade pode provocar mudanças genéticas nas populações celulares, surgindo células geneticamente divergentes ou modificadas e também acumulo de mutações genéticas (HOUSMAN *et al*., 2014; MANSOORI *et al*., 2017; PETERS, 2018; FARMER *et al*., 2005; BUGG *et al*., 1991; WANG; ZHANG; CHEN, 2019).

3.3.2 Processo de inativação de medicamentos

Para exercer seu efeito anticâncer muitos fármacos administrados necessitam passar por um processo de ativação, essa ativação envolve mecanismos extremamente complexos que dependem da ação de proteínas e enzimas. Essas biomoléculas podem interagir com o medicamento, modificando-o ou complexando-o de modo que ocorra sua ativação (NIKOLAOU *et al*., 2018; HOUSMAN *et al*., 2014; WANG; ZHANG; CHEN, 2019). Portanto, qualquer alteração no processo de ativação, vai impedir a eficácia do tratamento.

Existe alguns exemplos desse tipo de mecanismo de resistência, como é o caso da utilização de citarabina(AraC) no tratamento da leucemia mielóide aguda. A AraC precisa passar por um processo de ativação para exercer seu efeito sobre o tumor, essa ativação ocorre por meio de processos de fosforilação para converter a AraC em trifosfato de citarabina (AraC-trifosfato). Como a Arac não apresenta ação anticâncer, pois sua forma fosforilada é que provoca a morte das células tumorais, qualquer mecanismo de ação que modifique as moléculas que participam da via de fosforilação para a formação da AraC-trifosfato resulta em um mecanismo ineficiente de combate ao câncer (NIKOLAOU *et al*., 2018; HOUSMAN *et al*., 2014).

3.3.3 Alteração do alvo do fármaco

Um dos fatores essenciais para a eficácia de um fármaco no combate ao câncer é o seu alvo molecular, e qualquer alteração nesse alvo, pode provocar uma diminuição do efeito do medicamento contra o tumor. Esse mecanismo de resistência, também pode estar presente em vias de ativação do medicamento, por meio da alteração na transdução de sinal que ativa o medicamento (HOUSMAN *et al.*, 2014; MANSOORI *et al.*, 2017; WANG; ZHANG; CHEN, 2019).

Um exemplo de mecanismo de resistência por meio da alteração no alvo do medicamento, consiste da utilização e desenvolvimento de inibidores estrogênio no tratamento do câncer de mama. No caso de um tipo de câncer de mama com receptor de estrogênio positivo, é comumente utilizado o tamoxifeno para o tratamento. O tamoxifeno atua competido com o estrogênio pelo receptor de estrogênio, no entanto a exposição prolongada a esse fármaco faz com que as células tumorais adquiram resistência. Isso pode ser explicado por conta da complexidade de interações com vias de sinalização que o receptor de estrogênio apresenta, além de mutações e diminuição no nível de expressão desse receptor (MANSOORI *et al.*, 2017; WANG; ZHANG; CHEN, 2019).

4 I A NANOTECNOLOGIA NO COMBATE A RESISTÊNCIA AO CÂNCER

A nanotecnologia tem apresentado ênfase no desenvolvimento de diversos nanosistemas para reverter o quadro de resistência que os indivíduos apresentam aos sistemas tradicionais de tratamento ao câncer, além disso, muitos desses tratamentos anticâncer apresentam baixa seletividade para células cancerígenas e diversos efeitos colaterais. O objetivo dessa estratégia é fornecer uma variedade de novos materiais e dispositivos que possam tratar o câncer, com alta sensibilidade, especificidade e eficácia, uma vez que os tamanhos desses materiais são bastante compatíveis com as moléculas e outras estruturas que compõe o sistema biológico humano (NAVYA *et al.*, 2019; CONDE; LAFUENTE; BAPTISTA, 2013; GE; MA; LI, 2016).

Dessa forma os nanomateriais têm sido bastante estudados e aplicados em sistemas para melhorar a ação anticâncer de alguns medicamentos, tornando-se desse modo uma ferramenta muito útil para combate dessa doença. Os nanomateriais apresentam diversas características que podem ser uteis na terapia combinada para o tratamento do câncer, como entrega controlada de medicamentos encapsulados, capacidade de se concentrar exclusivamente na região do tumor, inibir a proliferação de células cancerígenas e também aumentar a concentração do medicamento em locais específicos (GE; MA; LI, 2016; ZHANG *et al.*, 2017).

Na literatura existe uma vasta gama de materiais baseados em compostos orgânicos, inorgânicos, lipídicos e proteicos projetados em escala de 1 a 200 nm para o combate ao câncer, no entanto apesar de inúmeras vantagens em relação aos sistemas clássicos,

para que esses nanomateriais exerçam as funções para as quais foram desenvolvidos, eles precisam passar por barreiras fisiopatológicas, altamente complexas, por isso esses materiais têm sido bastante estudados para que eles sejam capazes de combater os mecanismos de resistência a medicamentos e romper barreiras no ambiente celular (NAVYA *et al.*, 2019; LIU, *et al.*, 2018).

Para combater mecanismos de resistência ao câncer de mama, nanosistemas têm sido desenvolvidos para reverter esse quadro. Um exemplo de nanomaterial desenvolvido foram as "nanobombas" detonadas por meio do ultrassom de baixa frequência, essas "nanobombas" foram projetadas utilizando TiO_2 mesoporoso e utilizando como munição a doxorrubicina, sendo essas nanobombas revertidas de um disposto de DNA para evitar a liberação inesperada da doxorrubicina. Os resultados obtidos com esse estudo indicaram um grande avanço no combate a resistência e eficácia significativa anticâncer (SHI *et al.*, 2018)

Muitos nanomateriais metálicos têm sido desenvolvidos para serem utilizados em combinação com outros agentes cancerígenas. Nanopartículas de ouro de formato esférico com tamanho de 14 nm combinadas com um composto metálico de Co(II), irradiadas por um laser de comprimento de onda de 532 nm, levaram a morte de 65% de células altamente resistente a doxorrubicina de uma linhagem de câncer colo retal, sem provocar nenhuma alteração nas células saudáveis, mostrando que o uso de agentes quimioterápicos combinados com agentes fototérmicos pode ser uma ferramenta eficiente de combate a resistência (PEDROSA *et al.*, 2018).

5 I CONCLUSÃO

Devido ao crescente interesse no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de doenças, a nanotecnologia e a nanociência surgem como ferramentas poderosas no combate ao câncer, mostrando novas possibilidades de nanomateriais para utilização em mecanismos de liberação de fármacos para o tratamento e cura de células cancerígenas. Nesse artigo, são mostrados alguns materiais utilizados no desenvolvimento de nanosistemas para reverter ou minimizar a resistência dos indivíduos aos sistemas tradicionais de tratamento do câncer, buscando dessa forma mostrar estudos na área de nanotecnologia que buscam combater a progressão do câncer e a resistência a medicamentos ao longo do tratamento.

REFERÊNCIAS

BERTRAND, N. *et al*. **Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology**. Advanced drug delivery reviews, 66, 2-25, 2014.

BUGG, B. Y.*et a*l. **Expression of a mutant DNA topoisomerase II in CCRF-CEM human leukemic cells selected for resistance to teniposide**. Proc. Natl Acad. Sci., 7654–7658, 1991.

CONDE, J.; LAFUENTE, J. M. de; BAPTISTA, P. V. **Nanomaterials for reversion of multidrug resistance in cancer: a new hope for an old idea?**. **Front. Pharmacol.**, 4, 1-5, 2013.

DAIMA, H. K. *et al*. **Complexation of plasmid DNA and poly (ethylene oxide)/poly (propylene oxide) polymers for safe gene delivery**. Environmental chemistry letters,16, 1457-1462, 2018.

ELOY, J. O. *et al*. **Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs:** strategies to enhance encapsulation and delivery. Colloids and surfaces B: Biointerfaces,123, 345-363, 2014.

EMIRICH, D. F; THANOS, C.G. **Nanotechnology and medicine**. Expert Opion Biol Ther, 3, 665-663, 2003.

FARMER, H. *et al*. **Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy**. Nature, 434, 917–921, 2005.

FENG, T. *et al*. **A sandwich-type electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen based on signal amplification strategy of optimized ferrocene functionalized Fe_3O_4@SiO_2 as labels.** Biosensors and Bioelectronics, 79, 48-54, 2016.

GE, Y.; MA, Y.; LI, L. **The application of prodrug-based nano-drug delivery strategy in cancer combination therapy. Colloids And Surfaces B**: Biointerfaces,146, 482-489, 2016.

HANAFY, N. *et al*. **Polymeric Nano-micelles as novel cargo-carriers for LY2157299 liver cancer cells delivery.** International journal of molecular sciences, 19, 748, 2018.

HOLOHAN, C. *et al*. **Cancer drug resistance:** an evolving paradigm. **Nature Reviews Cancer**, 13, 714-726, 2013.

HOUSMAN, G. *et al*. **Drug resistance in cancer:** an overview. Carcers(Basel), 6, 1769-1792, 2014.

JAFARZADEH, M. *et al*. **Preparation of trifluoroacetic acid-immobilized Fe_3O_4@SiO_2–APTES nanocatalyst for synthesis of quinolines**. Journal of Fluorine Chemistry, 178, 219-224, 2015.

JAIN, R. K.; STYLIANOPOULOS, T. **Delivering nanomedicine to solid tumors.** Nature reviews Clinical oncology, 7, 653, 2010.

JEON, H. *et al*. **Poly-paclitaxel/cyclodextrin-SPION nano-assembly for magnetically guided drug delivery system.** Journal of controlled release, 231, 68-76, 2016.

KALEPU, S.; NEKKANTI, V. **Insoluble drug delivery strategies:** review of recent advances and business prospects. Acta Pharmaceutica Sinica B, 5, 442-453, 2015.

LIU, J. *et al*. **Smart nanoparticles improve therapy for drug-resistant tumors by overcoming pathophysiological barriers**. **Acta Pharmacologica Sinica**, 38, 1-8, 2016.

MANSOORI, B. *et al*. **The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance**: A Brief Review. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, 7, 339-348, 2017.

MIGNANI, S. *et al*. **Dendrimers in combination with natural products and analogues as anti-cancer agents.** Chemical Society Reviews, 47, 514-532, 2018.

MODY, N. *et al*. **Dendrimer, liposomes, carbon nanotubes and PLGA nanoparticles:** one platform assessment of drug delivery potential. Aaps Pharmscitech., 15, 388–399, 2014.

MOEENDARBARI, S. *et al*. **Theranostic nanoseeds for efficacious internal radiation therapy of unresectable solid tumors.** Scientific Reports, 6, 1–9, 2016.

MAEDA, H.; NAKAMURA, H.; FANG, J. **The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors:** Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. Advanced drug delivery reviews, 65, 71-79, 2013.

MUSTAPIĆ, M. *et al*. **Controlled delivery of drugs adsorbed onto porous Fe_3O_4 structures by application of AC/DC magnetic fields**. Microporous and Mesoporous Materials, 226, 243-250, 2016.

NAVYA, P. N. *et al*. **Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials**. **Nano Converg.**, 6, 1-30, 2019.

NIKOLAOU, M. *et al*. **The challenge of drug resistance in cancer treatment:** a current overview. Clin Exp Metastasis, 35, 309-318, 2018.

OLIVEIRA, L. F. *et al*. **Functionalized silica nanoparticles as an alternative platform for targeted drug-delivery of water insoluble drugs**. Langmuir, 32, 3217-3225, 2016.

PEDROSA, P. *et al*. **Combination of chemotherapy and Au-nanoparticle photothermy in the visible light to tackle doxorubicin resistance in cancer cells**. **Scientific Reports**, 8, 1-8, 2018.

PETERS, G. J. **Cancer drug resistance:** a new perspective. **Cancer Drug Resistance**, 1, 1-5, 2018.

ROMPICHARLA, S. V. K. *et al*. **Biotin functionalized PEGylated poly (amidoamine) dendrimer conjugate for active targeting of paclitaxel in cancer**. International journal of pharmaceutics, 557, 329-341, 2019.

SALEH, R.; ELKORD, E. **Acquired resistance to cancer immunotherapy**: Role of tumor-mediated immunosuppression. **Seminars in Cancer Biology**, 1-15, 2019.

SHI, J. *et al*. **Nanotechnology in drug delivery and tissue engineering**: from discovery to applications. Nano letters, 10, 3223-3230, 2010.

SHI, J. *et al*. **"US-detonated nano bombs" facilitate targeting treatment of resistant breast cancer**. **Journal Of Controlled Release**, 274, 9-23, 2018.

SINGH, R. K. *et al*. **Biocompatible magnetite nanoparticles with varying silica-coating layer for use in biomedicine:** Physicochemical and magnetic properties, and cellular compatibility. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 100, 1734-1742, 2012.

SUN, L. *et al*. **Malachite green adsorption onto Fe_3O_4@SiO_2-NH_2:** isotherms, kinetic and process optimization. RSC Advances, 5, 11837-11844, 2015.

VASCONCELOS, M. H. *et al*. **Extracellular vesicles as a novel source of biomarkers in liquid biopsies for monitoring cancer progression and drug resistance**. **Drug Resistance Updates**, 47, 100647-100666, 2019.

WADHAWAN, A.; CHATTERJEE, M.; SINGH, G. **Present Scenario of Bioconjugates in Cancer Therapy:** A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, 20, 1-23, 2019.

WANG, Y. *et al*. **Dendrimer modified magnetic nanoparticles for immobilized BSA:** a novel chiral magnetic nano-selector for direct separation of racemates. Journal of Materials Chemistry B, 1, 5028-5035, 2013.

WANG, X.; ZHANG, H.; CHEN, X. **Drug resistance and combating drug resistance in cancer**. **Cancer Drug Resistance**, 141-160, 2019.

WATERMANN, A.; BRIEGER, J. **Mesoporous silica nanoparticles as drug delivery vehicles in cancer**. Nanomaterials, 7, 189, 2017.

WEISSIG, V.; GUZMAN-VILLANUEVA, D. **Nanopharmaceuticals (part 2):** products in the pipeline. Int. J. Nanomed, 10, 1245, 2015.

YOUNGREN, S. R. *et al*. **STAT6 siRNA matrixloaded gelatin nanocarriers:** formulation, characterization, and ex vivo proof of concept using adenocarcinoma cells. BioMed Res. Int., 858-946, 2013.

ZHANG, M. *et al*. **Nanotechnology-based combination therapy for overcoming multidrug-resistant cancer**. **Cancer Biology & Medicine**, 14, 212-226, 2017.

ZHANG, T. *et al*. **Polysialic acid-polyethylene glycol conjugate-modified liposomes as a targeted drug delivery system for epirubicin to enhance anticancer efficiency**. Drug delivery and translational research, 8, 602-616, 2018.

CAPÍTULO 6

CELULOSE BACTERIANA PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

Data de aceite: 01/02/2021

Ricardo Barbosa de Sousa
Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Piauí, Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados
Teresina - Piauí
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, Campus Araguaína
Araguaína – Tocantins
http://lattes.cnpq.br/7417235183974526

Amanda Maria Claro
Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais da Universidade de Araraquara/BioPolMat/UNIARA
Araraquara – São Paulo
http://lattes.cnpq.br/9696947742883765

Hernane da Silva Barud
Laboratório de Biopolímeros e Biomateriais da Universidade de Araraquara/BioPolMat/UNIARA
Araraquara – São Paulo
http://lattes.cnpq.br/7020467292690112

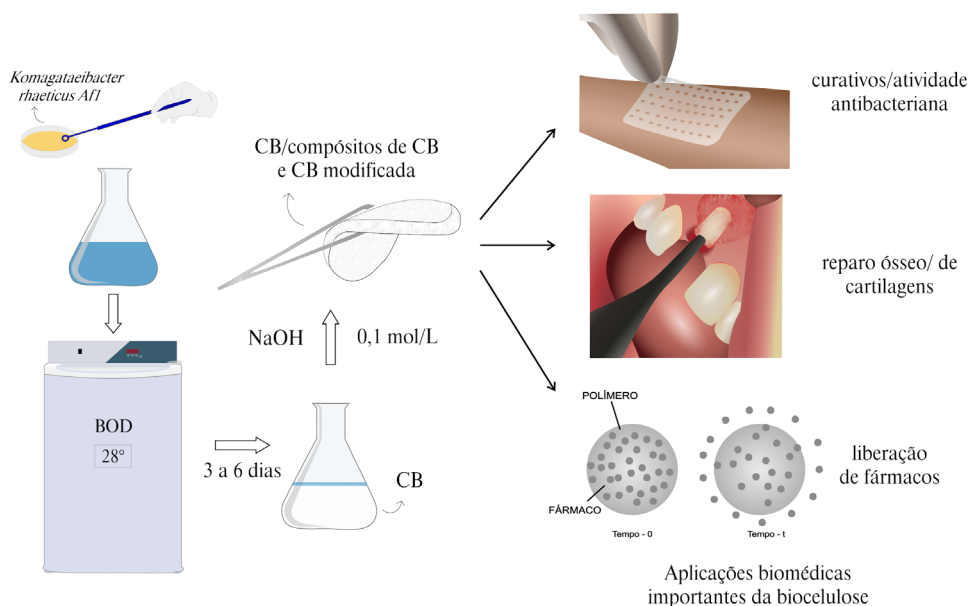
Sidney José Lima Ribeiro
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Química, Campus Araraquara
Araraquara – São Paulo
http://lattes.cnpq.br/6446047463034654

Edson Cavalcanti da Silva Filho
Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Piauí, Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados
Teresina – Piauí
http://lattes.cnpq.br/7892423373858047

RESUMO: A celulose bacteriana é um exopolissacarídeo secretado principalmente por bactérias acéticas e que tem sido aplicado nas mais diversas áreas, entre elas a biomédica. Neste trabalho, foi realizado um mapeamento científico e tecnológico das aplicações biomédicas desse biopolímero nos últimos dez anos, por meio de buscas utilizando palavras-chave adequadas nas bases de patentes *European Patent Office* (EPO), *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) e Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), além da base *Derwent Innovation Index (DII)* da *Web of Science/Clarivate Analytics* e nas bases de artigos *Scopus* e *Web of Science.* As buscas foram realizadas no mês de outubro de 2020. A China foi o país que mais publicou artigos relacionados à área, seguida do Brasil. Com relação às patentes depositadas, a China também liderou o *ranking*, seguida da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO), enquanto o Brasil ficou em 5º lugar junto à Coreia do Sul. A área de Ciência dos Materiais possuiu o maior número de artigos publicados sobre o tema. No que diz respeito à Classificação Internacional de Patentes, a subclasse *A61L* relacionada ao desenvolvimento de curativos e similares e a subclasse *A61K* associada a materiais com finalidades médicas e odontológicas se destacaram. O número de patentes depositadas relacionadas ao tema cresceu na última década, assim como a quantidade de artigos com culminância o ano de 2019. Apesar disso, o número de patentes depositadas é módico em relação ao número de artigos publicados, sobretudo no Brasil, o que sugere perspectivas presentes e futuras de

desenvolvimento de produtos patenteáveis.
PALAVRAS-CHAVE: Biocelulose. Polissacarídeo. Aplicações biomédicas.

ABSTRACT: Bacterial cellulose is an exopolysaccharide secreted mainly by acetic bacteria and it has been applied in several areas, including the biomedical field. In this work, a scientific and technological mapping related to the biomedical applications of this biopolymer was carried out for the last ten years by using appropriate keywords research at the European Patent Office (EPO), at the United States Patent and Trademark Office (USPTO), at the Brazilian Institute of Industrial Property (INPI), and at both the Derwent Innovation Index (DII) base of the Web of Science / Clarivate Analytics patent bases and the Scopus and Web of Science articles bases. The searches were carried out on October 2020. China is the country that had published most of the articles related to the area, followed by Brazil. Regarding the patents deposited, China also led the ranking, followed by the World Intellectual Property Organization (WIPO), while Brazil occupies the 5th place together with South Korea. The Materials Science field had the largest number of articles published on this subject. Concerning the International Patent Classification, *A61L* related to the development of dressings and similar materials and *A61K* related to materials for medical and dental purposes have standed out. The number of patents related to this topic has grown in the last decade as well as the number of articles with culmination in 2019. Despite this, the number of patents deposited is modest compared to the number of published articles, mainly in Brazil, which suggests present and future development perspectives of patentable products.
KEYWORDS: Biocellulose. Polysaccharide. Biomedical applications.

GRAPHICAL ABSTRACT

INTRODUÇÃO

A celulose é o mais abundante e um dos mais importantes biopolímeros renováveis da Terra. Extraída principalmente de plantas, a celulose pode também ser produzida por algas marinhas, musgos, animais marinhos como os tunicados e por bactérias, em especial as pertencentes ao gênero *Komagataeibacter* (CHEN *et al.*, 2020; OLIVEIRA-ALCANTARA *et al.,* 2020; HE *et al.* 2020; ROVERA *et al.*, 2020; LIMA *et al.,* 2015). Independentemente da origem, vegetal ou microbiana, a celulose é formada por ligações β-(1□4) glicosídicas interconectadas, conforme apresentado na Figura 1. Contudo, a celulose vegetal está frequentemente associada a outros polímeros, em geral hemicelulose e lignina, demandando complexos processos químicos para sua purificação, o que acarreta em alterações estruturais irreversíveis e na geração de poluentes ambientais (TRONCOSO; TORRES, 2020; WANG *et al.* 2020; CARVALHO *et al.*, 2020; TORGBO; SUKYAI*.* 2018).

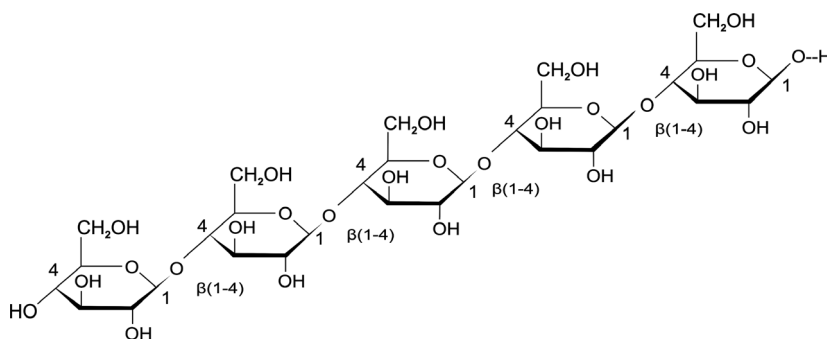



Figura 1 - Estrutura da celulose evidenciando as ligações β -(1□4) glicosídicas.

A celulose de origem microbiana, conhecida como biocelulose ou celulose bacteriana (CB), é isenta de lignina e hemicelulose, sendo de elevada pureza e cristalinidade superior a apresentada pela celulose vegetal (até 90%). Ademais, exibe propriedades peculiares, tais como elevada capacidade de retenção e absorção de água, alta resistência mecânica, durabilidade, elasticidade e biocompatibilidade. A CB é considerada um material promissor para diversas áreas e aplicações, como enquanto suporte para a produção de biossensores para detecção de glicose, plataformas multifuncionais para a síntese de materiais, aproveitamento de resíduos agroindustriais, na produção de alimentos como nata de coco e bebida kombucha, na produção de embalagens inteligentes (*smart packages*), em aplicações cosméticas na forma de máscaras faciais, em aplicações biomédicas na forma de curativos para feridas e queimaduras e na liberação controlada de fármacos, e na engenharia de tecidos duros como o osso e de tecidos moles como revestimento de vasos sanguíneos (SILVA et al., 2019; BARUD et al., 2016; LUSTRI et al., 2015; MACHADO et al., 2016; OLIVEIRA BARUD et al., 2015; KOLESOVS; SEMJONOVS, 2020; CARVALHO et

al., 2020; PACHECO et al., 2018; BETLEJ et al., 2020; NIRMAL et al., 2020; TAPIAS et al., 2020; PIRSA; SHAMUSI, 2019; MA et al., 2020).

A CB pode ser utilizada na produção de materiais em sua forma nativa, onde grupos hidroxila interagem fortemente entre si por meio de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares, ou modificada e/ou funcionalizada quando necessário orientar/modificar suas propriedades para determinados fins, por exemplo a partir da oxidação dos grupos OH a fim de aumentar a taxa de degradação do material (LUZ et al., 2020). Neste sentido diversos processos de obtenção de CB têm sido explorados considerando a influência das condições de cultivo (meio empregado, pH, fontes de carbono variadas, adição de materiais *in situ*) sobre as propriedades do material final (SOUSA et al., 2018; TORGBO, SUKYAI, 2020; WANG *et al.*, 2020; TRONCOSO; TORRES, 2020; PANG *et al.*, 2020; LIU *et al.,* 2020; ESLAHI *et al.,* 2020; QIU; NETRAVALI*,* 2014; LUO *et al.,* 2014).

Apesar da coletânea de características atrativas da biocelulose, algumas delas restringem sua aplicação na área biomédica em sua forma nativa, sobretudo em aplicações relacionadas à regeneração de tecidos. Entre estes entraves, está a ausência de bioatividade e biodegradabilidade *in vivo*. Biomateriais são considerados biodegradáveis quando as taxas de degradação no organismo variam de poucos meses até dois anos. Segundo ampla revisão sistemática da literatura realizada por Gorgieva (2020), a resistência à degradação, sobretudo *in vivo,* e a ausência de bioatividade tem limitado as aplicações médicas específicas da biocelulose. Para algumas aplicações, como em implantes biológicos, a estabilidade do material é bastante satisfatória. Contudo, no que diz respeito a engenharia tecidual, campo da medicina regenerativa cuja base está assentada no cultivo de células em *scaffolds*, ambas as características, biodegradação e bioatividade, são sobremaneira importantes. (GORGIEVA, 2020; PANDEY *et al.,* 2017; KATARI *et al.,* 2014; RAJWADE *et al.* 2015; PHOMRAK; PHISALAPHONG, 2020; YAN *et al.,* 2018).

Uma vez que constatada a resistência à degradação *in vivo* em sua forma primitiva (não modificada), a CB não atende a um dos pré-requisitos fundamentais da engenharia tecidual: que os *scaffolds* sejam degradados e reabsorvidos pelo organismo em uma taxa proporcional à taxa de regeneração tecidual (HU et al., 2016; LI *et al.*, 2009). Para que a degradação da CB seja otimizada diversas estratégias têm sido investigadas, desde alterações do meio de cultura para a sua formação até modificação superficial e *ex-situ*. Uma das modificações que tem sido exploradas é a irradiação dessas membranas com raios gama. Darwis *et al.* (2013) verificaram que a CB modificada com radiação gama com doses de 25 a 50 kGy após imersão do material em fluido corpóreo simulado, atingiu perdas de massa de 18 a 25% em seis meses. Por outro lado, Saska *et al.* (2011) realizaram tratamento com radiação gama de 20 kGy em compósitos de CB/hidroxiapatita (HAp) e não observaram alterações significativas na estabilidade térmica dos compósitos, indicando que este é um método apropriado de esterilização deste material.

Alta cristalinidade e ausência de enzimas que degradam a celulose no corpo

humano conduzem o material em contato com o meio biológico ao mecanismo de hidrólise não-enzimática das ligações *β*-(1-4) glicosídicas que é extremamente lenta. Dessa forma, estratégias como a modificação química dos grupos hidroxila por outros grupos funcionais que viabilizem a degradação sem comprometer a biocompatibilidade da CB têm sido amplamente estudadas: entre estas reações estão a oxidação, esterificação, eterificação, silanização e acetilação (GORGIEVA *et al.,* 2020). Ademais a CB nativa é um material bioinerte, isto é, uma vez implantado não causa reações no organismo. Para algumas aplicações que requerem que o material seja bioativo, isso pode ser atingido por meio da combinação da CB com materiais orgânicos ou inorgânicos para fabricação de compósitos nos quais o outro componente tenha propriedades convenientes. É o caso dos fosfatos de cálcio (Ca-P) que são bioativos e frequentemente utilizados em associação a materiais poliméricos para aplicações em reparo ósseo, substituição óssea e melhoria do desempenho de enxertos ósseos (SOUSA *et al.,* 2020; BUSUIOC, *et al.* 2016, ARMENTANO *et al*., 2018; JESUS; PELLOSI; TEDESCO, 2019, BASU *et al.,* 2019).

O objetivo deste trabalho é apresentar uma prospecção tecnológica das aplicações biomédicas da celulose bacteriana em sua forma nativa, modificada ou associada a outros materiais na forma de compósitos, a partir de dados publicados nos periódicos das bases *Web of Science* e *Scopus* e também por meio de buscas de patentes depositadas nas bases do Instituto Nacional de Propriedade Intelectual - INPI, do Escritório Europeu de Patentes - EPO, do Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos e na base *Derwent Innovation Index (DII)* da *Web of Science/Clarivate Analytics*, na última década (2011-2020).

METODOLOGIA

Neste trabalho, foi realizada uma busca de anterioridade em bases de artigos e patentes. Os artigos foram pesquisados nas bases *Scopus e Web of Science* e as patentes nas bases INPI, EPO, USPTO e *Derwent.* Foram utilizadas palavras-chave em inglês, à exceção da base INPI em que as pesquisas foram realizadas em português. “*Bacterial cellulose”* AND “*biomedic*”,* “*Bacterial cellulose”* AND “*medic*”,* “*Bacterial cellulose”* AND “*calcium phosphate”,* “*Bacterial cellulose”* AND “*modification”,* “*Bacterial cellulose”* AND “*bone”* foram algumas das palavras-chave empregadas, conforme Figura 2. Além disso, as buscas foram restritas à última década (2011-2020) e as pesquisas foram realizadas entre setembro e outubro de 2020.

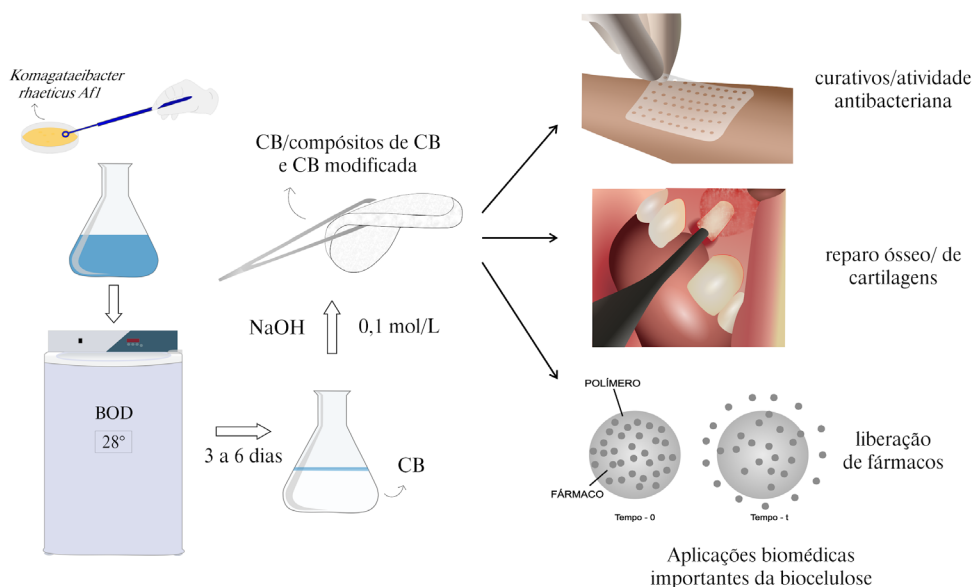



Figura 2 - Arranjo ilustrativo relacionado às aplicações da celulose bacteriana encontradas neste trabalho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Indubitavelmente, a celulose bacteriana tem expressiva participação no que diz respeito ao interesse de pesquisadores de diversas áreas, devido ao conjunto de suas propriedades físico-químicas atrativas (OLIVEIRA BARUD *et al.,* 2016). Uma pesquisa nas bases de artigos *Scopus* e *Web of Science*, utilizando o termo *"bacterial cellulose"* e restringindo as pesquisas ao intervalo entre 2011-2020, resultou em 3293 e 4010 artigos científicos publicados, respectivamente, conforme Tabela 1. Ao realizar a busca do mesmo termo nas bases de patentes, percebeu-se que os resultados foram mais discretos, tendo-se registrado os maiores valores para a base europeia (EPO) com 1361 registros e a base *Derwent* com 1901 registros.

	Bases de artigos		Bases de patentes			
Palavras-chave	*Scopus*	*Web of Science*	*INPI*	*EPO*	*USPTO*	*Derwent*
Bacterial cellulose	3293	4010	24	1361	38	1901
Bacterial cellulose and calcium phosphates	28	10	0	50	0	11
bacterial cellulose and modification	283	433	0	68	0	49
bacterial cellulose and functionalization	58	122	0	3	0	3
bacterial cellulose and production	685	777	0	301	3	235
bacterial cellulose and biosynthesis	292	379	0	5	0	11
bacterial cellulose and composites	999	1681	0	409	8	552
bacterial cellulose and medicine	325	258	0	175	0	208
bacterial cellulose and biomedical	347	422	0	44	0	44

Tabela 1 - Palavras-chave principais empregadas para buscas de patentes e artigos científicos. Limitou-se a busca de artigos em periódicos da *Scopus* e *Web of Science* assim como nas bases de patentes aos anos de 2011-2020.

Na combinação de palavras-chave *"bacterial cellulose" AND "medic*"* traduzida no conjunto de usos médicos/biomédicos da celulose bacteriana, conforme se observa na Tabela 1 foram obtidos 325 e 258 artigos científicos nas bases *Scopus* e *Web of Science,* respectivamente, o que corresponde reciprocamente a cerca de 9,9% e 6,4% das aplicações destes materiais para fins biomédicos nos últimos dez anos. Este percentual fica em torno de 10,5% quando são utilizadas as palavras-chave *"bacterial cellulose" AND" biomedic"**. Nas bases de patentes EPO e *Derwent*, esses valores estão em torno de 12,8% e 10,9%, de modo recíproco. Nas bases INPI e USPTO não foram registrados resultados de depósitos de patentes com as palavras-chave empregadas, apesar do número de artigos. Isso revela que, apesar da viabilidade do uso da celulose bacteriana para aplicações biomédicas apontada pelo índice crescente de artigos publicados, o desenvolvimento de novos produtos na forma de curativos, enxertos para reparo ósseo, cartilagens, tecidos vasculares entre outros, é ainda incipiente. Ainda dentro desses percentuais, há uma quantidade relevante de usos mais específicos, os quais constam na Figura 3.

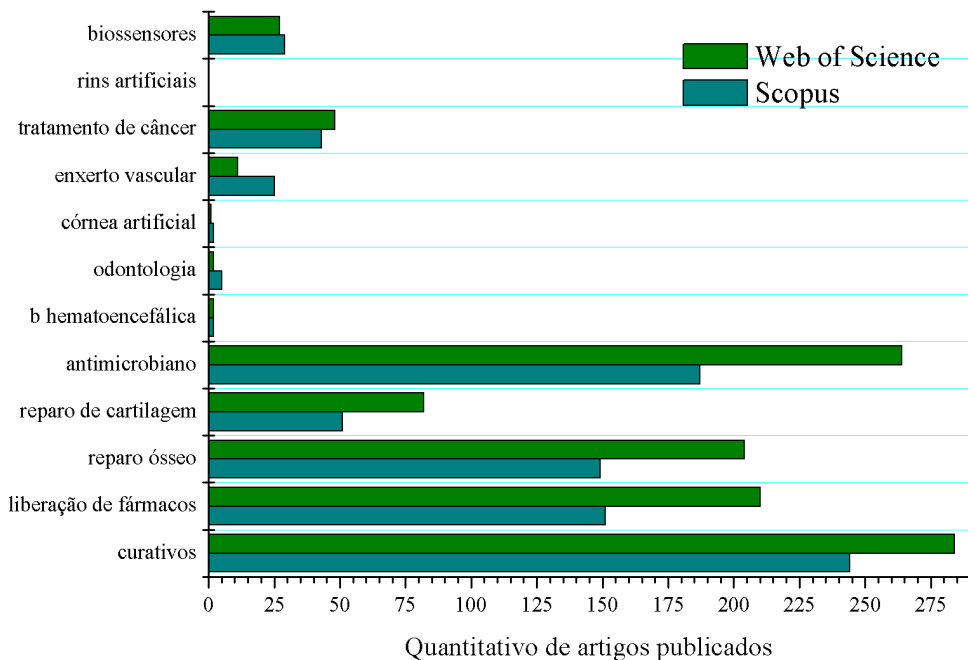



Figura 3 - Quantitativo de artigos científicos publicados na última década (2011-2020), utilizando para consulta as bases *Scopus* e *Web of Science* para aplicações biomédicas específicas (*b hematoencefálica* refere-se a barreira hematoencefálica).

Pela análise do gráfico da Figura 3, é possível constatar que as aplicações biomédicas relacionadas a curativos, materiais antimicrobianos, liberação de fármacos e reparo ósseo têm maior destaque. De forma similar, a Figura 4 exibe as principais competências tecnológicas da CB associadas a fins biomédicos, onde as mesmas aplicações, exceto liberação de fármacos, aparecem de forma mais recorrente.

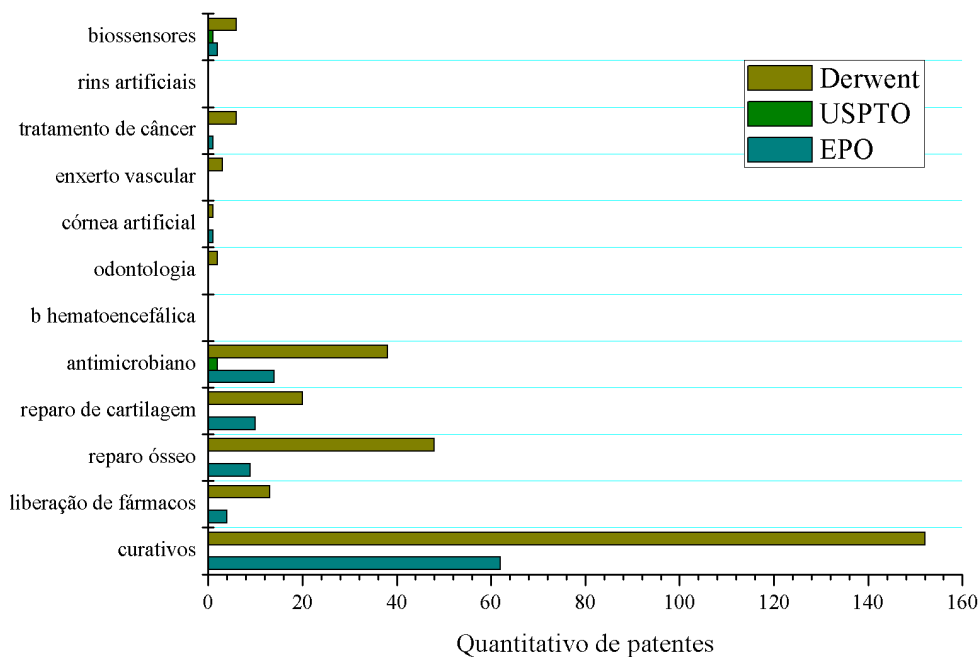



Figura 4 - Quantitativo de patentes depositadas na última década (2011-2020), utilizando para consulta as bases INPI, EPO, USPTO e Derwent, para aplicações biomédicas específicas (*b hematoencefálica* refere-se a barreira hematoencefálica).

De fato, a aplicação de CB na forma de biocurativos foi uma das primeiras aplicações biomédicas para a qual foi destinada a celulose bacteriana. De acordo com Oliveira Barud *et al.* (2016), Fontana e colaboradores (1990) foram os pioneiros a sugerir a aplicação da celulose bacteriana na forma de curativos para queimaduras da pele. A partir de então, só tem aumentado o número de publicações que investigam o uso da CB como cobertura temporária para o tratamento de feridas causadas por abrasões, lacerações, queimaduras de segundo grau, feridas diabéticas, entre outras.

Moraes e colaboradores (2016) realizaram uma investigação comparativa da eficiência de curativos a base de celulose bacteriana/colágeno em relação à pomada comercial a base de colagenase. Os resultados se mostraram estatisticamente significantes a partir do 7º dia e um melhor desempenho na cicatrização de feridas induzidas em ratos foi obtido pelo curativo de CB/colágeno em comparação a pomada de colagenase e ao grupo controle, o que demostra que este é um material bastante promissor para aplicação na forma de curativo.

O desenvolvimento de materiais que sejam capazes de acelerar o processo cicatricial de queimaduras da pele tem sido o foco de muitos pesquisadores. Neste sentido, Sajjad *et al.* (2020) investigaram a eficácia de nanocompósitos de celulose bacteriana carregados com curcumina (CB-Cur). Além de apresentar atividade antibacteriana, conhecida propriedade

da curcumina, contra patógenos diversos (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus e Salmonella typhimurium*), o nanocompósito não apresentou citotoxicidade, tendo se mostrado capaz de promover uma acelerada cicatrização de feridas em até 64,25% após 15 dias em camundongos Balb/c. Outros trabalhos têm investigado as estruturas cristalina e supramolecular da CB em diferentes níveis de hidrólise enzimática para obter curativos biodegradáveis capazes de cicatrizar feridas de terceiro grau. Ivanova e colaboradores (2020) utilizaram a enzima celobiohidrolase isolada a partir do fungo *Scytalidium candidum 3C* para hidrolisar celulose bacteriana, cuja taxa de reação foi medida em termos de equivalentes de celulose liberados em função do tempo. O controle sobre a taxa de hidrólise enzimática do material é possível em condições nas quais pretende-se promover a regeneração ou cicatrização de tecidos danificados, além de permitir otimização da taxa de degradação do curativo. Adicionalmente, foi demonstrado que a hidrólise enzimática parcial da CB promoveu alterações significativas no material nativo, tendo modificado sua morfologia (aumento considerável da espessura de suas nanofibras de 8 para 14 nm e de sua largura de 50 nm para 500 nm, tornando suas dimensões mais próximas às das fibras de colágeno), aumentado a permeação das membranas à água e ao vapor (requisito interessante para acelerar o processo de cicatrização) e reduzido pela metade sua área específica superficial, o que alterou de forma positiva suas propriedades adesivas.

Apesar da biocompatibilidade e do uso satisfatório como biomaterial para cicatrização de feridas, a CB nativa não possui atividade antimicrobiana. Entretanto, ao ser associada com compostos antimicrobianos pode adquirir tal propriedade. A literatura apresenta ainda numerosos estudos em que a CB é associada a nanopartículas metálicas com atividade antimicrobiana tais como a prata (CB-Ag), a materiais semicondutores como o TiO_2 que viabilizam a destruição de microrganismos pela geração de espécies reativas de oxigênio, ou mesmo a antibióticos (GORGIEVA, 2020; ARAÚJO *et al.*, 2018; HORUE *et al.*, 2020; BARUD *et al.*, 2011).

Horue e colaboradores (2020) desenvolveram compósitos à base de celulose bacteriana e argila montmorilonita modificada por troca iônica com Ag^+ (CB-MMT-Ag) sugerindo seu uso para tratamento de feridas cutâneas crônicas. Obtiveram resultados muito positivos na inibição de bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram-negativas (*P. aeruginosa*) e os compósitos, contendo entre 1 e 25% de MMT-Ag, apresentaram satisfatória biocompatibilidade *in vitro* quando ensaiadas com células fibroblásticas L929. Ademais, quando comparado este material com o compósito CB-Ag, isto é, sem a presença da argila, foi verificada para este último uma elevada liberação de íons Ag^+, o que pode conduzir a efeitos colaterais indesejáveis com o desenvolvimento de patologias como a argiria. Dessa forma, o uso de montmorilonita modificada foi uma estratégia eficaz para controlar a liberação de prata. Araújo e colaboradores (2018) desenvolveram nanocompósitos de CB/nanopartículas de cobre (CB-Cu) e avaliaram o efeito do tempo de processamento

sobre as propriedades físico-químicas dos materiais. Foram identificadas nanopartículas de Cu(0) e também de óxidos de cobre (Cu_xO_y). Os filmes de CB-Cu apresentaram elevada atividade antibacteriana contra cepas de *E. coli, S. aureus* e *Salmonella,* sendo, portanto, sugeridos para uso enquanto curativos para feridas contaminadas. Barud *et al.* (2011), por sua vez, produziram compósitos de CB-Ag por um método *in situ* no qual nanopartículas de Ag foram obtidas a partir da decomposição hidrolítica de nitrato de prata, utilizando trietanolamina como agente complexante e redutor. Neste trabalho, diferentemente daquele desenvolvido por Araújo *et al.* (2018) onde as nanopartículas metálicas foram obtidas juntos a nanopartículas em sua forma oxidada, foram obtidas apenas nanopartículas de Ag e não uma mistura contendo nanopartículas de Ag junto a óxidos de prata na presença de etanolamina. Ainda nesse trabalho foi possível verificar que a concentração de etanolamina é determinante para controlar o tamanho das partículas sobre a superfície da CB. Os compósitos de CB-Ag apresentaram forte atividade antibacteriana *Staphylococcus aureus* (bactérias Gram-positivas), *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (bactérias Gram-negativas), que são bactérias encontradas comumente em feridas contaminadas.

Alguns estudos envolvendo derivados de CB também demonstram, além de atividade antibacteriana, sua aplicação para liberação controlada de fármacos e atividade antitumoral. Para citar um exemplo, Chaabane *et al.* (2020) prepararam um compósito de celulose bacteriana modificada por macromoléculas quelantes (bases de Schiff) para precipitação de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4-NPs). A modificação se iniciou pela preparação de 2,3-dialdeído-celulose bacteriana (DACB) por oxidação dos grupos -OH via periodato de sódio ($NaIO_4$). Para a produção da base de Schiff, houve enxertia (*grafting*) subsequente com etilenodiamina e grupos benzil bem como a precipitação de íons Fe^{3+} em condições básicas. O nanocompósito, facilmente separável por meio da aplicação de um campo magnético, apresentou atividade antimicrobiana e citotóxica superior às apresentadas pelo controle positivo, sem que exibissem citotoxicidade contra células mononucleares do sangue periférico. Ademais, foram realizados ensaios *in vivo* durante dez dias, nos quais o material foi implantado em ratas com câncer de cólon e verificou-se uma maior supressão das dimensões do tumor (atividade antitumoral) associado ao tratamento quimioterápico.

Cacicedo e colaboradores (2020) desenvolveram compósitos de celulose bacteriana e quitosana como sistemas para a liberação do fármaco ciprofloxacina. A associação com a quitosana foi estratégica para o compósito, uma vez que, em sua forma nativa, a CB não é capaz de encapsular e controlar a liberação de moléculas menores como antibióticos. Outro trabalho publicado recentemente explorou o emprego de nanofibras de celulose bacteriana (CBNF) como excipiente farmacêutico para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada (MENEGUIN *et al.,* 2020). A celulose bacteriana foi inicialmente desfibrilada por diversos métodos mecânicos, entre eles o de dispersão através do emprego de um *Ultra-turrax,* e, em seguida, as suspensões de CBNF obtidas foram misturadas a manitol (MN),

maltrodextrina (MD) ou hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e secas em um *spray-dryer* para obtenção de micropartículas. Entre os sistemas desenvolvidos, as micropartículas à base de CBNF-MN tiveram o melhor desempenho na liberação dependente do pH de fármacos lipofílicos via administração oral. A Figura 5 ilustra o processo de fabricação das formulações de CBNF contendo cafeína e diclofenaco de sódio obtidas por meio da técnica de *spray-dryer.*

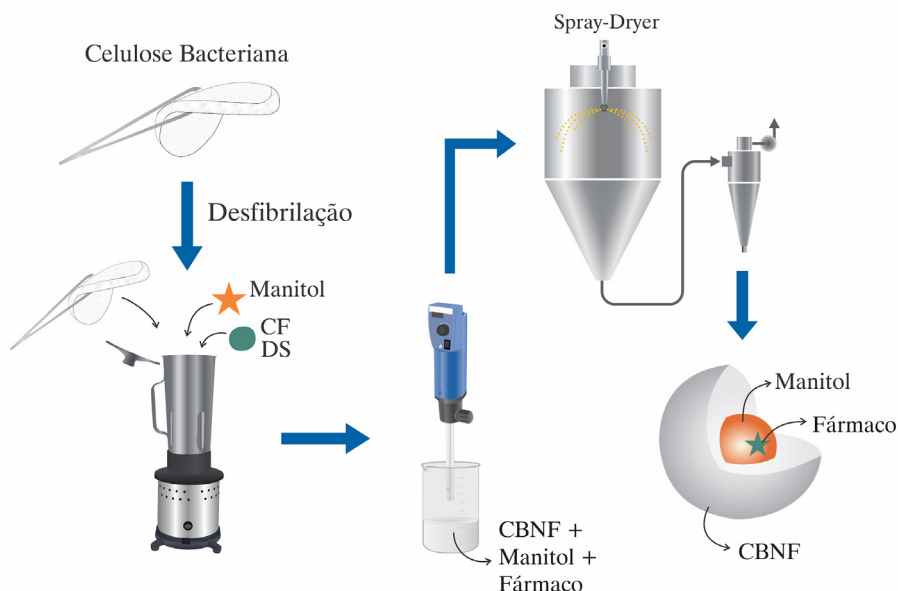



Figura 5 - Arranjo experimental empregado para a fabricação de formulações de CBNF/MN/DS e CBNF/MN/CF. CBNF= nanofibras de celulose bacteriana; MN= manitol; DS = diclofenaco sódico; CF=cafeína).

Fonte: Adaptado de MENEGUIN *et al.* (2020).

Uma aplicação também bastante explorada da celulose bacteriana está associada ao reparo do tecido ósseo, com 204 publicações na *Web of Science* e 149 publicações na *Scopus,* entre 2011 e 2020. Isso indica que a pesquisa envolvendo esse biopolímero no reparo/regeneração de tecidos ósseos é uma aplicação que tem sido investigada com afinco, apesar de o número de patentes depositadas não ser tão expressivo, haja vista que, utilizando-se a combinação de palavras-chave *"bacterial cellulose" AND "bone",* constatam-se 9 depósitos na base EPO e 48 na base *Derwent.* Para as bases INPI e USPTO não houve registros com essas palavras-chave.

O grupo de pesquisa de Yizao Wan, da Escola de Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade de Tianjin (China), tem envidado esforços em pesquisas relacionadas

ao desenvolvimento de compósitos ou derivados de celulose bacteriana para aplicações biomédicas, em especial relacionadas à engenharia tecidual óssea, investigando, entre outros temas, a influência da modificação de parâmetros no processo de mineralização. Gao *et al.* (2011), por exemplo, desenvolveram esponjas de celulose bacteriana por liofilização de uma emulsão de CB a fim de aumentar os poros desse biomaterial, haja vista que a CB nativa possui porosidade muito inferior ao necessário para o crescimento e migração celulares. Além de ter sido possível otimizar as propriedades do material através da obtenção de porosidade adequada para a proliferação celular, conforme demonstrado por meio de ensaios *in vitro* com o uso de células-tronco mesenquimais derivadas da membrana senovial, o material apresentou excelente biocompatibilidade. Ainda nesse sentido, com o objetivo de investigar o processo de mineralização *in situ* de fosfatos de cálcio em membranas de celulose bacteriana, Luo *et al.* (2015) utilizaram a técnica de Espectroscopia de raios-X (XANES) para a análise dos compósitos obtidos. Os pesquisadores puderam, por meio deste trabalho, provar que a química superficial dos materiais tridimensionais investigados (celulose bacteriana nativa ou modificada: CB fosforilada, CB-gelatina ou CB-ε-polissilano) influencia significativamente a formação dos fosfatos de cálcio e quais transições estes podem sofrer. A Figura 6 a seguir, adaptada de Luo *et al.* (2015), ilustra o mecanismo de formação dos fosfatos de cálcio, conforme descrito pelos autores.

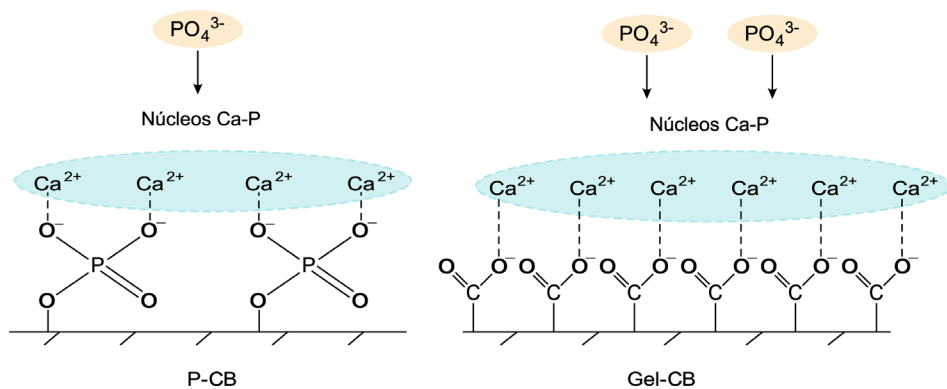



Figura 6 - Mecanismo de formação de Ca-P sobre as superfícies de celulose bacteriana fosforilada (P-CB) e de celulose bacteriana modificada com gelatina (Gel-CB).

Fonte: Adaptada de Luo *et al.* (2015).

Com efeito, uma quantidade significativa de trabalhos científicos e competências tecnológicas foram publicados na última década envolvendo aplicações biomédicas da celulose bacteriana, com aumento considerável de publicações e depósitos de patentes conforme mostrado nas Figuras 7 e 8, em que foram utilizadas as palavras-chave *"bacterial celulose" and medic**. Em ambos os casos, houve um número mais significativo no ano

de 2019. Esse incremento no número de publicações ao longo dessa década e com seu cume em 2019 sugere que nos últimos anos se intensificaram as pesquisas relacionadas às aplicações da celulose bacteriana na área biomédica, sobretudo na forma de curativos, sistemas para liberação de fármacos e aplicações relacionadas à engenharia tecidual. Apesar de o presente trabalho não contemplar todo o ano de 2020, considera-se que houve um decréscimo no número de pesquisas em 2020, o que pode estar associado ao fato de que os pesquisadores da área biomédica, biotecnológica e de áreas correlatas, têm direcionado esforços sobretudo ao desenvolvimento de novas estratégias para o combate do novo coronavírus (SARS-CoV-2).

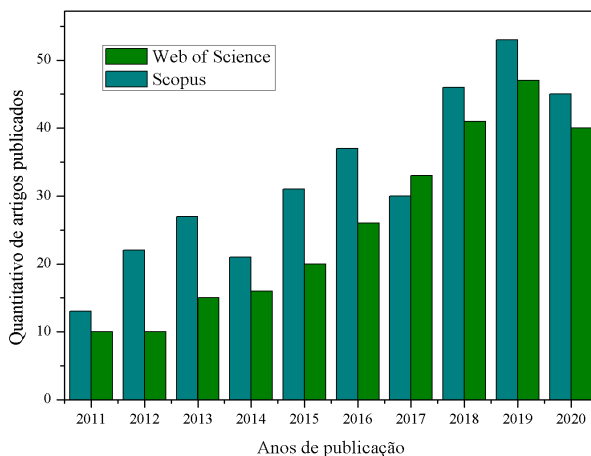



Figura 7 - Artigos científicos por base e anos de publicação (2011-2020).

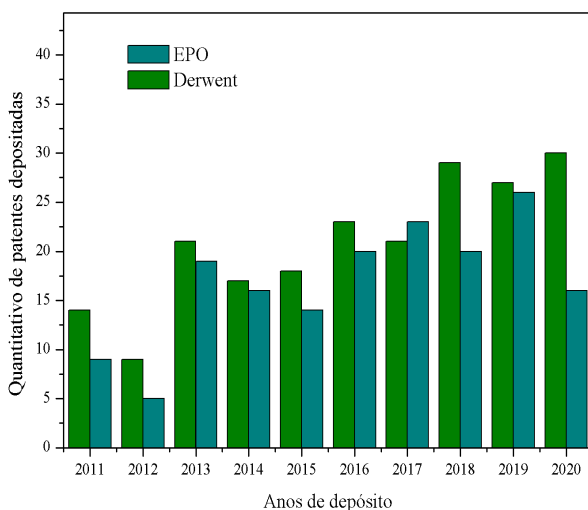



Figura 8 - Patentes depositadas por base e ano de depósito (2011-2020).

A Figura 9 ilustra o *ranking* dos países que mais publicaram artigos científicos ao longo dessa década, com as palavras-chave anteriormente relacionadas.

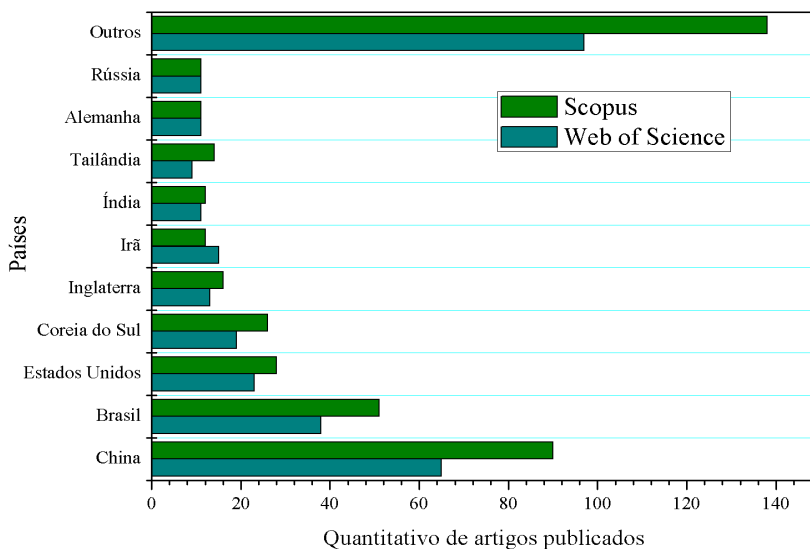



Figura 9 - *Ranking* dos países que mais publicaram artigos com as palavras-chave anteriormente supracitadas.

Observa-se na Figura 9 que a China figura em primeiro lugar com 65 publicações na *Web of Science* e 90 na base *Scopus*. Em segundo e terceiro lugares, na base *Web of Science* e na *Scopus,* estão o Brasil (38 e 51 publicações, respectivamente) e os Estados Unidos (com 23 e 28 publicações, respectivamente). Quando analisados os depósitos de patentes, conforme Figura 10, os maiores depositantes são a China (148 patentes na EPO e 162 patentes na *Derwent*) e a Organização Mundial de Propriedade Intelectual (*WIPO*) (7 patentes na EPO e 20 patentes na *Derwent*), seguidos da Rússia com 11 patentes depositadas em cada base. Posteriormente aparecem os Estados Unidos com o depósito de 4 patentes na base EPO e 5 na base *Derwent*. China e Estados Unidos são potências que recebem muitos investimentos oriundos da iniciativa privada, o que conduz a um maior impulso ao desenvolvimento de novos produtos nesses países, culminando em maior número de registros das competências tecnológicas dessas nações.

O Brasil, por sua vez, apesar da quantidade expressiva de publicações, ocupa o 5º lugar junto a outros países como México, Coreia do Sul e Índia, com apenas quatro registros na base *Derwent*. A China, tanto em termos de publicações quanto registros de patentes, detém o pioneirismo conforme resultados apresentados. O país tem tradição no desenvolvimento científico e tecnológico em diferentes áreas, como é o caso da área biomédica, o que explica certa consonância entre desenvolvimento científico e tecnológico,

diferentemente de países emergentes como o Brasil que, apesar de bem posicionado em relação às contribuições científicas, ainda necessita de maiores investimentos em inovação.

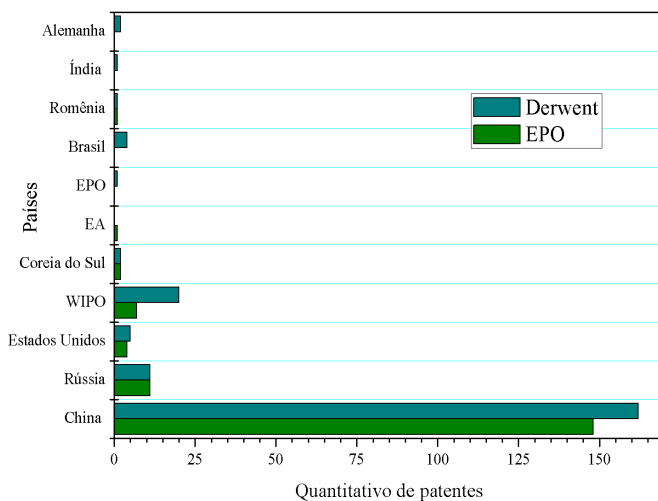



Figura 10 - *Ranking* dos países que mais depositaram patentes com as palavras-chave anteriormente supracitadas. Siglas: EPO = European Patent Office (escritório europeu de patentes), EA = Organização Euroasiática de Patentes, WIPO = World Intellectual Property Organization (Organização Mundial da Propriedade Intelectual).

Com relação às áreas do conhecimento, as Figuras 11 e 12 demonstram as áreas predominantes dos artigos científicos da base *Scopus* e *Web of Science,* respectivamente.

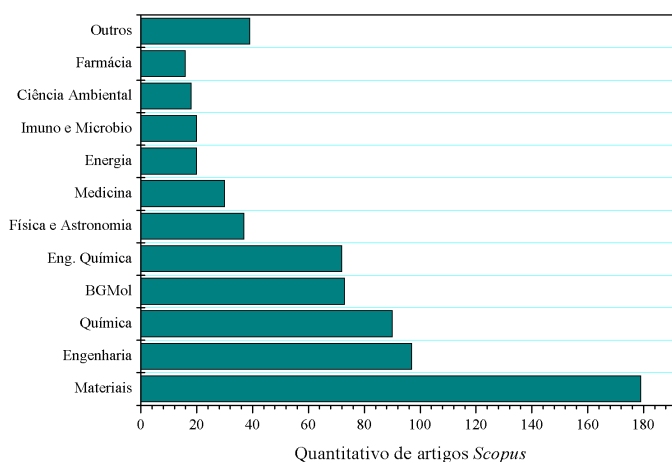



Figura 11 - Áreas do conhecimento predominantes nos artigos publicados na base *Scopus.* Abreviações: Imuno e Microbio = Imunologia/Microbiologia, BGMol = Bioquímica, Genética e Biologia Molecular.

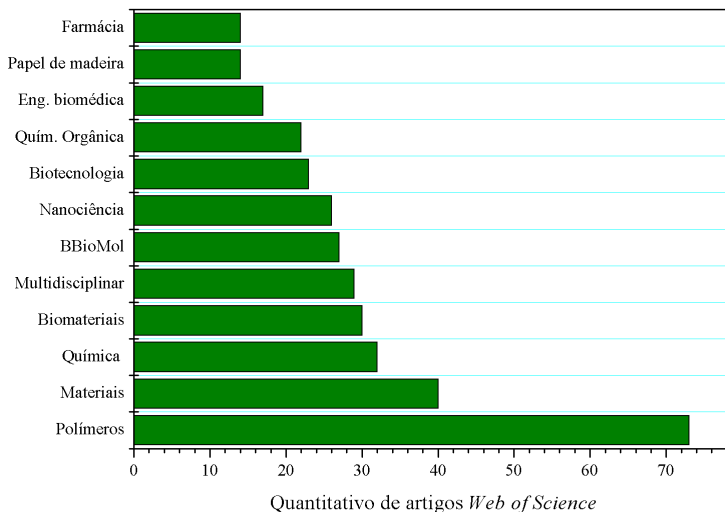



Figura 12 - Áreas do conhecimento predominantes nos artigos publicados na base *Web of Science.* Abreviações: Tec. Alimentos = Tecnologia em Alimentos, BBioMol = Bioquímica/ Biologia Molecular, C&T = Ciência e Tecnologia.

Para ambas as bases de artigos, a área Ciência dos Materiais é predominante (179 publicações na *Scopus* e 73 publicações na *Web of Science*). É importante ressaltar que a Ciência dos Polímeros é uma subárea da Ciência dos Materiais, que inclusive aborda materiais como a celulose bacteriana, um polímero natural. De fato, a Ciência dos Materiais é uma área multidisciplinar e bastante atrativa para pesquisadores de múltiplos campos do conhecimento investirem em pesquisas. A área de Engenharia, e nessa inclui-se a Engenharia de Materiais, é a segunda colocada para a base *Scopus* (97 publicações), enquanto na base *Web of Science* aparece a área de Ciência de Materiais propriamente dita (40 publicações). A área de Química é a terceira colocada para ambas as bases, com 90 publicações na *Scopus* e 32 publicações na *Web of Science.* Os artigos também são relacionados a áreas do conhecimento estratégicas tais como biomateriais, biotecnologia, engenharia química, bioquímica e biologia molecular, além de farmácia e farmacologia.

Para os bancos de patentes, as áreas do conhecimento específicas relacionadas às patentes não são pesquisadas da mesma forma que os artigos são buscados, mas por meio de classificações, sobretudo utilizando a Classificação Internacional de Patentes (*IPC - International Patent Classification*) criada no Acordo de Estrasburgo em 1971 (INPI, 2020). Tendo em vista que as bases INPI e USPTO não apresentaram registros com a busca da combinação de palavras-chave relacionada a aplicações biomédicas da celulose bacteriana, os gráficos das Figuras 13 e 14 apresentam as classificações das patentes depositadas nas bases EPO e *Derwent,* nessa mesma ordem.

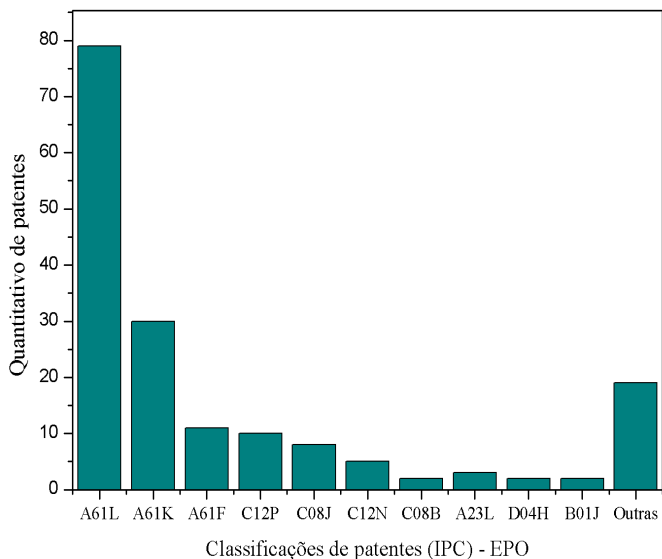



Figura 13 - Principais classificações atribuídas às patentes pesquisadas na base EPO.

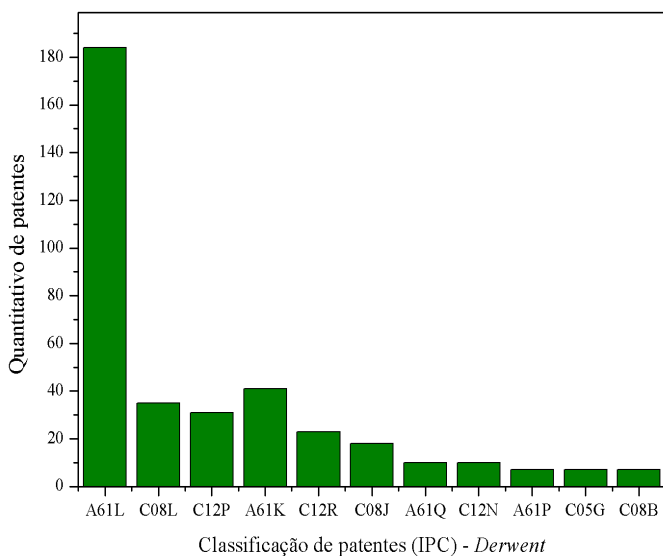



Figura 14 - Principais classificações atribuídas às patentes pesquisadas na base *Derwent*.

Convém destacar que a uma mesma patente são atribuídas, de maneira geral, várias classificações. Para a base EPO do escritório europeu de patentes, as três principais classificações atribuídas foram: *A61L* (relativa, entre outras aplicações, a aspectos químicos de bandagens, curativos ou materiais para artigos cirúrgicos), *A61K* (preparações para fins médicos e dentários) e *A61F* (filtros implantáveis em vasos sanguíneos, dispositivos

ortopédicos, bandagens, curativos entre outras). Evidentemente, a classificação que se destaca, *A61L*, relacionada a patentes de biocelulose na forma de curativos ou bandagens, corrobora com o fato de que as pesquisas envolvendo a produção de curativos à base de celulose bacteriana foram as primeiras propostas de uso bem-sucedido de CB no campo biomédico.

Com relação à classificação *A61K*, que aparece como a segunda mais numerosa, esta está diretamente relacionada a pesquisas envolvendo biomateriais para fins médicos e, mais especificamente, para fins odontológicos. Essa apuração pode estar associada a resultados positivos no que concerne o emprego da celulose bacteriana no desenvolvimento de compósitos com fosfatos de cálcio para a produção de enxertos aloplásticos, ou mesmo materiais para regeneração óssea guiada, que consiste na formação de uma barreira que impede o crescimento de tecidos conjuntivos orientando, portanto, o processo de neoformação óssea. A classificação *A61F* relacionada de forma ampla às aplicações biomédicas mencionadas e também a filtros implantáveis em vasos sanguíneos, indica a versatilidade das aplicações médicas relacionadas à celulose bacteriana.

Para a base *Derwent,* a classificação mais atribuída às patentes também foi a *A61L,* entretanto seguida da *C08L* (compostos macromoleculares) e da *A61K.* Convém, entretanto, mencionar que há expressividade da classificação *C12P* relacionada a processos fermentativos para realizar a síntese de compostos químicos de interesse. Nesse caso, esta classificação está relacionada às inovações nos processos produtivos de celulose bacteriana, por meio do controle dos microorganismos e da investigação de alterações nas condições de cultivo como a fonte de carbono, que podem resultar em maior rendimento do bioproduto.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo revelou o panorama em termos de desenvolvimento científico e as tendências tecnológicas durante esta década (2011-2020) aferidas pelas publicações de artigos científicos e depósitos de patentes. Foi possível mapear a relevância do uso da celulose bacteriana em aplicações médicas/biomédicas, o crescimento do interesse pela pesquisa e inovação nesse campo, com maior número de publicações de artigos (53 publicações na *Scopus* e 47 na *Web of Science*) e depósitos de patentes em 2019 (26 na base gratuita EPO e 27 na base *Derwent*). A China foi o país que mais publicou artigos relacionados à área, seguida do Brasil. Com relação às patentes depositadas, a China também liderou o *ranking*, seguida da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO), enquanto o Brasil ficou em 5º lugar junto à Coreia do Sul. Com relação às áreas do conhecimento, a área de Ciência de Materiais/Ciência dos Polímeros teve destaque nas bases *Scopus* e *Web of Science* com, respectivamente, 179 e 73 artigos publicados sobre o tema. A classificação internacional de patentes *A61L*, que se refere a aspectos

químicos de bandagens, curativos ou materiais para artigos cirúrgicos, destacou-se em ambas as bases de patentes que apresentaram registros com as palavras-chave combinadas. As classificações *A61K* (biomateriais para fins médicos e ou odontológicos) e *A61F* (filtros implantáveis em vasos sanguíneos, dispositivos ortopédicos, bandagens, curativos entre outras) foram também bastante atribuídas às patentes. Estas classificações revelam o potencial tecnológico da celulose bacteriana a ser explorado não somente no desenvolvimento de curativos e bandagens, mas também para aplicações odontológicas, como materiais para regeneração tecidual.

Há, de fato, uma discrepância significativa entre o número de artigos publicados e o número de patentes depositadas, ainda que tenham sido consideradas quatro bases de patentes distintas e apenas duas bases de artigos científicos. O elevado número de publicações sugere que há muitos estudos em andamento com relação ao uso da celulose bacteriana na área biomédica, entretanto a materialização dessas pesquisas em produtos patenteáveis de inovação ainda é incipiente e tem perspectivas futuras animadoras.

AGRADECIMENTOS

Hernane da Silva Barud agradece ao CNPq (Financiamento nº 407822/2018-6; INCT-INFO), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Financiamentos nº 2018/25512-8 e n° 2013/07793-6) e TA Instrumentos Brasil.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, I. M. S.; SILVA, R. R.; PACHECO, G.; LUSTRI, W. R.; TERCJAK, A.; GUTIERREZ, J.; SANTOS JÚNIOR, J. R.; AZEVEDO, F. H. C.; FIGUÊREDO, G. S.; VEGA, M. L.; RIBEIRO, S. J. L.; BARUD, H. S. Hydrothermal synthesis of bacterial cellulose–copper oxide nanocomposites and evaluation of their antimicrobial activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 179, p. 341-349, 2018.

ARMENTANO, I.; GIGLI, M.; MORENA, F.; ARGETANTI, C.; TORRE, L.; MARTINO, S. Recent advances in nanocomposites based on aliphatic polyesters: Esign, synthesis, and applications in regenerative medicine. **Applied Sciences**, v. 8, p. 1452–1462, 2018.

BARUD, H. S.; GUTIERREZ, J.; LUSTRI, W.R.; PERES, M. F. S.; RIBEIRO, S. J. L.; SASKA-SPECIAN, S.; TERCJAK, A. Bacterial cellulose. In: NEVES, N. M.; REIS, R. L. (edit.). **Biomaterials from nature for advanced devices and therapies**, 1. ed. John Wiley & Sons, Inc. Published, 2016.

BARUD, H. S.; REGIANI, T.; MARQUES, R. F. C.; LUSTRI, W. R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Antimicrobial bacterial cellulose-silver nanoparticles composite membranes, **Journal of Nanomaterials,** v. 2011, 2011.

BASU, P.; SAHA, N.; ALEXANDROVA, R.; SAHA, P. Calcium phosphate incorporated bacterial cellulose-polyvinylpyrrolidone based hydrogel scaffold: structural property and cell viability study for bone regeneration application. **Polymers**, v. 11, n. 11, 2019.

BETLEJ, I.; SALERNO-KOCHAN, R.; KRAJEWSKI, K.; ZAWADZKI, J.; BORUSZEWSKI, P. The influence of culture medium components on the physical and mechanical properties of cellulose synthesized by kombucha microorganisms. **Bioresources**, v. 15, n. 2, p. 3125-3135, 2020.

BUSUIOC, C.; STROESCU, M.; STOICA-GUZUN, A.; VOICU, G.; JINGA, S. I. Fabrication of 3D calcium phosphates based scaffolds using bacterial cellulose as template. **Ceramics International**, v. 42, n. 14, p. 15449–15458, 2016.

CACICEDO, M. L.; PACHECO, G.; ISLAN, G. A.; ALVAREZ, V. A. ; BARUD, H. S.; CASTRO, G. R. Chitosan-bacterial cellulose patch of ciprofloxacin for wound dressing: Preparation and characterization studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 147, p. 1136-1145, 2020.

CARVALHO, T.; GUEDES, G.; SOUSA, F. L.; FREIRE, C. S. R.; SANTOS, H. A. Latest advances on bacterial cellulose-based materials for wound healing, delivery systems, and tissue engineering. **Biotechnology Journal**, v. 14, n. 12, p. 1–19, 2019.

CHAABANE, L.; CHAHDOURA, H.; MEHDAOUI, R.; SNOUSSI, M.; BEYOU, E.; MOHAMMED LAHCINI, M.; BAOUAB, M. H. V. Functionalization of developed bacterial cellulose with magnetite nanoparticles for nanobiotechnology and nanomedicine applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 247, n. July, 2020.

CHEN, S. Q.; CAO, X.; LI, Z. F.; ZHU, J.; LI, L. Effect of lyophilization on the bacterial cellulose produced by different Komagataeibacter strains to adsorb epicatechin. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, n. 11663, 2020.

DARWIS, D.; KHUSNIYA, T.; HARDININGSIH, L.; NURLIDAR, F.; WINARNO, H. In-vitro degradation behaviour of irradiated bacterial cellulose membrane. **Atom Indonesia**, v. 38, n. 2, p. 78–82, 2012.

ESLAHI, N.; MAHMOODI, A.; MAHMOUDI, N.; ZANDI, N.; SIMCHI, A. Processing and properties of nanofibrous bacterial cellulose-containing polymer composites: a review of recent advances for biomedical applications. **Polymer Reviews**, v. 60, n. 1, p. 144–170, 2020.

FONTANA, J. D.; DE SOUZA, A. M.; FONTANA, C. K.; TORRIANI, I. L.; MORESCHI, J. C.; GALLOTTI, B. J. ; DE SOUZA, S. J. ; NARCISCO, G. P.; BICHARA, J. A.; FARAH, L. F. X. Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 24–25, p. 253-264, 1990.

GAO, C.; WAN, Y.; YANG, C.; DAI, K.; TANG, T.; LUO, H.; WANG, J. Preparation and characterization of bacterial cellulose sponge with hierarchical pore structure as tissue engineering scaffold. **Journal of Porous Materials**, v. 18, n. 2, p. 139–145, 2011.

GORGIEVA, S. Bacterial cellulose as a versatile platform for research and development of biomedical materials, **Processes**, n. 8, v. 624, 2020.

HE, X. L.; MENG, H.Y.; SONG, H. D. ; DENG, S. Y.; HE, T. T.; WANG, S.; WEI, D. S.; ZHANG, Z. J. Novel bacterial cellulose membrane biosynthesized by a new and highly efficient producer Komagataeibacter rhaeticus TJPU03. **Carbohydrate Research**, v. 493, n. 108030, 2020.

HORUE, M.; CACICEDO, M. L.; FERNANDEZ, M. A.; RODENAK-KLADNIEW, B.; SÁNCHEZ, R. M. T.; CASTRO, G. R. Antimicrobial activities of bacterial cellulose – Silver montmorillonite nanocomposites for wound healing. **Materials Science and Engineering C**, v. 116, n. November 2019, p. 111152, 2020.

HU, Y.; ZHU, Y.; ZHOU, X.; RUAN, C.; PAN, H.; CATCHMARK, J. M. Bioabsorbable cellulose composites prepared by an improved mineral-binding process for bone defect repair. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, p. 1235–1246, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL - INPI, Classificação de patentes. Disponível em: <http://antigo.inpi.gov.br/menu-servicos/patente/classificacao-de-patentes> Acesso em: 13 out. 2020.

IVANOVA, L. A.; USTINOVICH, K. B.; KHAMOVA, T. V.; ENEYSKAYA, E. V.; GORSHKOVA, Y. E.; TSVIGUN, N. V.; BURDAKOV, V. S.; VERLOV, N. V.; ZINOVEV, E. V.; ASADULAEV, M. S.; SHABUNIN, A. S.; FEDYK, A. M.; BARANCHIKOV, A. Y.; KOPITSA, G. P.; KULMINSKAYA, A. A. Crystal and supramolecular structure of bacterial cellulose hydrolyzed by cellobiohydrolase from scytalidium candidum 3C: A basis for development of biodegradable wound dressings. **Materials**, v. 13, n. 9, 2020.

JESUS, P. C. C.; PELLOSI, D. S.; TEDESCO, A. C. Magnetic nanoparticles: applications in biomedical processes as synergic drug-delivery systems. **Materials for Biomedical Engineering**, v. 29, n. 5, p. 371–396, 2019.

KATARI, R. S.; PELOSO, A.; ORLANDO, G. Tissue Engineering. **Advances in Surgery**, p. 1–18, 2014.

KOLESOVS, S.; SEMJONOVS, P. Production of bacterial cellulose from whey—current state and prospects. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 7723–7730, 2020.

LI, J.; WAN, Y.; LI, L. F.; LIANG, H.; WANG, J. Preparation and characterization of2,3-dialdehyde bacterial cellulose for potential biodegradable tissue engineering scaffolds. **Materials Science and Engineering C**. v 29, 1635–1642, 2009.

LIMA, L. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS, M. V.; BARUD, H. S.; HENRIQUE, M. A.; PASQUINI, D.; PECORARO, E.; RIBEIRO, S. J. L. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1140-1147, 2015.

LIU, W.; DU, H.; ZHANG, M.; LIU, K.; LIU, H.; XIE, H.; ZHANG, X.; SI, C. Bacterial cellulose-based composite scaffolds for biomedical applications: a review. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, n. 8, p. 7536-7562, 2020.

LUO, H.; XIONG, G.; ZHANG, C.; LI, D.; ZHU, Y.; GUO, R.; WAN, Y. Surface controlled calcium phosphate formation on three-dimensional bacterial cellulose-based nanofibers. **Materials Science and Engineering C**, v. 49, p. 526–533, 2015.

LUSTRI, W. R.; OLIVEIRA BARUD, H. G.; BARUD, H. S.; PERES, M. F. S.; GUTIERREZ, J.; TERCJAK, A.; OLIVEIRA JUNIOR, O. B.; RIBEIRO, S. J. L. Microbial cellulose — biosynthesis mechanisms and medical applications. In: **Cellulose - fundamental aspects and current trends**, 2015.

LUZ, E. P. C. G.; CHAVES, P. H. S.; VIEIRA, L. A. P.; RIBEIRO, S. F.; BORGES, M. F.; ANDRADE, F. K.; MUNIZ, C. R.; INFANTES-MOLINA, A.; RODRIGUÉZ-CASTELLÓN, E.; ROSA, M. F.; VIEIRA, R. S. *In vitro* degradability and bioactivity of oxidized bacterial cellulose-hydroxyapatite composites. **Carbohydrate Polymers**, v. 237, 2020.

MA, X. X.; CHEN, Y. J.; HUANG, J. Y.; LV, P. F.; HUSSAIN, T.; WEI, Q. F. In situ formed active and intelligent bacterial cellulose/cotton fiber composite containing curcumin. **Cellulose**, 2020.

MACHADO, R. T. A.; GUTIERREZ, J.; TERCJAK, A.; TROVATTI, E.; UAHIB, F. G. M.; NASCIMENTO, A. P.; BERRETA, A. A.; RIBEIRO, S. J. L.; BARUD, H. S. Komagataeibacter rhaeticus as an alternative bacteria for cellulose production, **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 841-849, 2016.

MENEGUIN, A. B; BARUD, H.S.; SÁBIO, R. M.; SOUSA, P. Z.; MANIERI, K. F.; FREITAS, L. A. P.; PACHECO, G.; ALONSO, J. D.; CHORILLI, M. Spray-dried bacterial cellulose nanofibers: a new generation of pharmaceutical excipient intended for intestinal drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 249, n. March, 2020.

MORAES, P. R. F. S.; SASKA, S.; BARUD, H.; LIMA, L. S.; MARTINS, V. C. A.; PLEPIS, A. M. G.; RIBEIRO, S. J. L.; GASPAR, A. M. M. Bacterial cellulose/collagen hydrogel for wound healing. **Materials Research**, v. 19, n. 1, p. 106–116, 2016.

NIRMAL, N.; PILLAY, M. N.; MARIOLA, M.; PETRUCCIONE, F.; VAN ZYL, W. E. Formation of dialysis-free Kombucha-based bacterial nanocellulose embedded in a polypyrrole/PVA composite for bulk conductivity measurements. **RSC Advances**, v. 10, n. 46, p. 27585-27597, 2020.

OLIVEIRA BARUD, H. G.; SILVA, R.R.; BARUD, H. S.; TERCJAK, A.; GUTIERREZ, J.; LUSTRI, W.R.; OLIVEIRA JUNIOR, O. B.; RIBEIRO, S. J. L. A multipurpose natural and renewable polymer in medical applications: Bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 153, p. 406-420, 2016.

OLIVEIRA-ALCANTARA, A. V.; ABREU, A. A. S.; GONCALVES, C.; FUCINOS, P.; CERQUEIRA, M. A.; GAMA, F. M. P.; PASTRANA, L. M.; RODRIGUES, S.; AZEREDO, H. M. C. Bacterial cellulose/cashew gum films as probiotic carriers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 130, n. 109699, 2020.

PACHECO, G.; MELLO, C.V.; CHIARI-ANDRÉO, B. G.; ISAAC, B.L.V.; RIBEIRO, S. J. L.; PECORARO, E.; TROVATTI, E. Bacterial cellulose skin masks—Properties and sensory tests. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 17, p. 840-847, 2018.

PANDEY, A. R.; SINGH, U. S.; MOMIN, M.; BHAVSAR, C. Chitosan : Application in tissue engineering and skin grafting, **Journal of Polymer Research**. n. 24, v. 125, 2017.

PANG, M.; HUANG, Y.; MENG, F.; ZHUANG, Y.; LIU, H.; DU, M.; MA, Q.; WANG, Q.; CHEN, Z.; CHEN, L.; CAI, T.; CAI, Y. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 122, p. 109365, 2020.

PHOMRAK, S.; PHISALAPHONG, M. Lactic acid modified natural rubber-bacterial cellulose composites. **Applied Sciences Basel**, v. 10, n. 10, 2020.

PIRSA, S.; SHAMUSI, T. Intelligent and active packaging of chicken thigh meat by conducting nano structure cellulose-polypyrrole-ZnO film. **Materials Science and Engineering C**, v.102, p. 798-809, 2019.

QIU, K.; NETRAVALI, A. N. A review of fabrication and applications of bacterial cellulose based nanocomposites, **Polymers Reviews**, v. 54, p. 598–626, 2014.

RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Applied Microbiology & Biotechnology**, 2015.

ROVERA, C.; FIORI, F.; TRABATTONI, S.; ROMANO, D.; FARRIS, S. Enzymatic Hydrolysis of Bacterial Cellulose for the Production of Nanocrystals for the Food Packaging Industry. **Nanomaterials**, v. 10, n. 735, 2020.

SAJJAD, W.; HE, F.; ULLAH, M.W.; IKRAM, M.; SHAH, M. A.; KHAN, R.; KHAN, T.; KHALID, A.; YANG, G.; WAHID, F. Fabrication of bacterial cellulose-curcumin nanocomposite as a novel dressing for partial thickness skin burn. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, n. September, p. 1–12, 2020.

SASKA, S.; BARUD, H. S.; GASPAR, A. M. M.; MARCHETTO, R. RIBEIRO, S. J. L.; MESSADDEQ, Y. Bacterial cellulose-hydroxyapatite nanocomposites for bone regeneration. **International Journal of Biomaterials**, v. 2011, 2011.

SILVA, R. R.; RIBEIRO, S. L. J.; BARUD, H. S.; BARUD, H. O.; OLIVEIRA J. R., O. N.; MEJÍA-SALAZAR, J. R. Biopolymer-Metal Composites. Cap. 11. In: **Metal Nanostructures for Photonics**, p. 261-301, 2019.

SOUSA, R. B.; VIEIRA, E. G.; MENEGUIN, A. B.; SÁBIO, R. M.; ANTEVELI OSAJIMA FURTINI, J. A. O.; SILVA FILHO, E. C. Recent advances in methods of synthesis and applications of bacterial cellulose/calcium phosphates composites in bone tissue engineering: **International Journal of Advances in Medical Biotechnology - IJAMB**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 11-20, 2018.

TAPIAS, Y. A. R.; PELTZER, M. A.; DELGADO, J. F.; SALVAY, A. G. Kombucha tea by-product as source of novel materials: formulation and characterization of films, **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 7, p. 1166-1180, 2020.

THOMAS, P.;, DUOLIKUN, T.; RUMJIT, N. P.; MOOSAVI, S.; LAI, C. W.; JOHAN, M. R. B.; FEN, L. B. Comprehensive review on nanocellulose: recent developments, challenges and future prospects. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 110, n. April, p. 103884, 2020.

TORGBO, S.; SUKYAI, P. Bacterial cellulose-based scaffold materials for bone tissue engineering. **Applied Materials Today**, v. 11, p. 34–49, 2018.

TORGBO, S.; SUKYAI, P. Biodegradation and thermal stability of bacterial cellulose as biomaterial : The relevance in biomedical applications. **Polymer Degradation and Stability**, v. 179, p. 109232, 2020.

TRONCOSO, O. P.; TORRES, F. G. Bacterial cellulose — graphene based nanocomposites. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 22, p. 1–17, 2020.

WANG, X.; TANG, J.; HUANG, J.; HUI, M. Production and characterization of bacterial cellulose membranes with hyaluronic acid and silk sericin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 195, p. 111273, 2020.

YAN, H.Q.; HUANG, D.G.; CHEN, X.Q.; LIU, H.F.; FENG, Y.H.; ZHAO, Z.D.; DAI, Z.H.; ZHANG, X.Q. ; LIN, Q. A novel and homogeneous scaffold material: preparation and evaluation of alginate/bacterial cellulose nanocrystals/collagen composite hydrogel for tissue engineering. **Polymer Bulletin,** v. 75, n. 3, p.985-1000, 2018.

CAPÍTULO 7

ENSAIOS PARA PRODUÇÃO DE UM SORVETE PROBIÓTICO A PARTIR DO USO DE EXTRATO DE *Theobroma grandiflorum* (CUPUAÇU) E CEPAS COMERCIAIS DE *Lactobacillus acidophilus*

Data de aceite: 01/02/2021

Elaine Isabel Melo Alves Coelho
Estudante do curso técnico de química do Instituto Federal de Rondônia (IFRO) *Campus* Calama

Lívia Maria Pinto Rodrigues
Estudante do curso técnico de química do Instituto Federal de Rondônia (IFRO) *Campus* Calama

Edailson de Alcântara Corrêa
Professor de EBTT, Dr. em Biodiversidade e Biotecnologia e Pesquisador do Instituto Federal de Rondônia (IFRO) *Campus* Calama

RESUMO: Os probióticos são considerados propulsores de saúde e seu uso está associado à redução do risco de desenvolvimento de doenças. Dos agentes microbianos usados com potencial probiótico, os *Lactobacillus* sp. são bactérias gram-positivas, anaeróbicas facultativas e colonizadoras benéficas do intestino delgado. Esta pesquisa teve por objetivo produzir um sorvete probiótico a partir do uso do extrato da polpa de *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu) com *L. acidophilus*. Os ensaios foram realizados de acordo com as orientações técnico-científicas clássicas pré-estabelecidas, pelos órgãos de regulação e pelas indústrias alimentícias. Os resultados possibilitaram a produção de um sorvete com extrato da polpa de *T. grandiflorum* e cepas de *L. acidophilus* com potencial probiótico e apresentando propriedades sensoriais características dos extratos – cupuaçu, textura cremosa, tonalidade branca e suavemente adocicado. Nas análises físico-químicas mostrou pH: 5,27, IR de 33,2 ºBrix, lipídeos totais de 8,26% e taxa de derretimento à 26 ºC inicial - TI:16 e final - TF:65 min., dados que corroboram os padrões da literatura científica. Entretanto, sugere-se estudos complementares que possam contribuir com as análises, bem como aprimorar o processo de produção para agregar valores ao novo produto.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos Probióticos. Bactérias. Cupuaçu. Amazonia.

TESTS FOR PRODUCTION OF A PROBIOTIC ICE CREAM BY USING EXTRACT OF *Theobroma grandiflorum* (CUPUAÇU) AND COMMERCIAL STRAPS OF *Lactobacillus acidophilus*

ABSTRACT: Probiotics are considered health drivers and their use is associated with a reduced risk of developing diseases. Of the microbial agents used with probiotic potential, *Lactobacillus* sp. they are gram-positive, facultative anaerobic bacteria and beneficial colonizers of the small intestine. This research aimed to produce a probiotic ice cream using the pulp extract of *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu) with *L. acidophilus.* The tests were carried out in accordance with the pre-established classic technical-scientific guidelines, by the regulatory bodies and by the food industries. The results made possible the production of an ice cream with extract of the pulp of *T. grandiflorum* and strains of *L. acidophilus* with probiotic potential and presenting sensory properties characteristic

of the extracts - cupuaçu, creamy texture, white and mildly sweet tonality. In the physical-chemical analyzes it showed pH: 5.27, IR of 33.2 ºBrix, total lipids of 8.26% and melting rate at the initial 26 ºC - TI: 16 and final - TF: 65 min., Data that corroborate the standards of scientific literature. However, we suggest complementary studies that can contribute to the analysis, as well as improve the production process to add value to the new product.
KEYWORDS: Probiotic foods. Bacteria. Cupuaçu. Amazonia.

INTRODUÇÃO

Os seres humanos apresentam uma permanente preocupação com a saúde e com a qualidade de vida, fato que vem potencializando o desenvolvimento e a produção de alimentos funcionais que, além de nutritivos e saudáveis, estimulam as atividades metabólicas do organismo (Goldberg, 1994).

Dos diferentes alimentos produzidos a partir do uso de microrganismos, o probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus* apresenta, dentre outras, importância associada à prevenção de muitas doenças como a enterocolite necrosante em lactente pré-maturo; prevenção de diarreia por *C. difficile* em adultos e na prevenção relacionada ao uso de antibióticos; no tratamento da diarreia aguda infecciosa em crianças e está envolvido na produção enzima lactase e no aumento da imunidade (Ruemmele, 2009).

De acordo com o Ministério da Saúde (2015), o Brasil, país de dimensões continentais, é constituído por regiões e estados famosos por sua rica variedade em recursos naturais. A história brasileira, desde a colonização, traz relatos da cultura alimentar: sua cor, seu aroma e seu sabor. Dadas estas características, Beluzzo (2005) relata que o país apresenta uma singular culinária caracterizada pela incorporação da cultura original de populações indígenas, assim como vasto número de tradições, como a africana, portuguesa, espanhola, italiana, alemã, polonesa, francesa, holandesa, libanesa, japonesa, entre outras. Ainda, segundo o autor, muitos alimentos típicos são bem conhecidos e utilizados nos pratos, nas receitas tradicionais.

Nesse contexto de país tropical, dos alimentos de importância para as regiões de clima quente evidenciada na culinária contemporânea, o sorvete é um produto de boa aceitação sensorial e, no Brasil, ocorre anualmente uma ótima perspectiva para o seu crescimento comercial (Almeida, 1999).

Dos produtos brasileiros, em especial da biodiversidade Amazônica, destaca-se o cupuaçu que apresenta muitas características benéficas à saúde como a “produção do teor de ácidos graxos monoinsaturados que confere maciez à gordura sendo uma característica muito apreciada pelos consumidores” (Cohen, 2005). Adicionalmente, a utilização dessa gordura natural desprovida de ligações *trans* pode substituir gorduras hidrogenadas na fabricação de bolo e sorvete (Cohen, 2005).

No caso dos alimentos classificados como probióticos que, por sua vez, fazem parte do grande grupo com propriedades funcionais e são formulados por microrganismos vivos

que, quando ingeridos regularmente de forma adequada, oferecem inúmeros benefícios para a vida do hospedeiro (Saad, 2006). Normalmente, os microrganismos considerados como probióticos, quando ingeridos, alcançam o intestino do hospedeiro e são somados à microbiota já existente, auxiliando o equilíbrio e contribuindo na absorção de nutrientes (Havenaar; Huis In't Veld, 1992). Dados mostram que as cepas dos *L. acidophilus* produzem ácido fólico, niacina, tiamina, riboflavina e vitamina K, (Shah, 2007). Neste contexto, os sorvetes modificados podem atender às demandas por alimentos funcionais que crescem em aceitação no mundo e conquistam os consumidores como os que apresentam alguma restrição alimentar - diabéticos e os intolerantes à lactose, além dos seguidores de alimentação saudável (Iaros; Pinheiro, 2016). Além disso, no caso dos alimentos frios – sorvetes, estudos mostram que a manutenção e estocagem da qualidade desses produtos devem ser sob resfriamento de -18°C (Sebrae, 2020). Adicionalmente, os probióticos produzidos a partir do *L. acidophilus*, podem ser inoculados em produtos congelados e armazenados por ser até 60 dias, a uma temperatura de – 25 ºC (Andrighetto; Gomes, 2003).

Diante do exposto, esta pesquisa teve por objetivo realizar ensaios para produção de um sorvete probiótico a partir do uso de extrato comerciais de *Theobroma granflorum* (cupuaçu) e *L. acidophilus* utilizando técnicas tradicionais de produção.

MATERIAIS E METÓDOS

No método de produção, modificado de Sebrae (2020) e Orosco e Kunigk (2012) atendendo as orientações de Brasil (2003) na resolução - RDC 267, utilizou cepas comerciais de *L. acidophilus* no aditamento de 1g/200 milhões de Unidade Formadora de Colônia – UFC e extrato (97,5 g) em polpa *T. granflorum* (cupuaçu). Os ensaios, realizados no laboratório de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Federal de Rondônia – IFRO, *campus* Calama em 2020 utilizou, para a fabricação, ingredientes industrializados que foram previamente selecionados, pesados nas respectivas concentrações de 97,5g de extrato de cupuaçu, 197,5 g de leite condensado, 100g de creme de leite e 2g de emulsificante.

Após a seleção, realizou-se a preparação da calda, com exceção do *L. acidophilus*. Inicialmente, os ingredientes foram homogeneizados manualmente por 20 min e, em seguida, realizou-se a pasteurização da solução em Banho-maria (Mod.: Novatecnica, NT 248), sob agitação a 75 °C por 15 segundos (2x). Após esta etapa, conduziu-se a maturação da calda em - 4 ºC. Em seguida, para inoculação do probiótico – conservado a -8 ºC, conduziu-se o degelo da calda em micro-ondas (Mod.:*Panasonic Style*, NN-ST654WRUK) por 20 segundos.

Para a mistura, reativou-se o probiótico a partir das orientações de Orosco e Kunigk (2012). Nos ensaios, 01g / 200 milhões de *L. acidophilus* foram adicionados e homogeneizados em 10 mL de leite desnatado. Em seguida, o composto foi incubado em

Banho-maria a 37 °C por 2 h. Após esta etapa, adicionou-se 2g de emulsificante comercial na calda e realizou-se o processo de homogeneização dos ingredientes nas proporções de 10 mL da solução reativada contendo *L. acidophilus* em 350 mL da solução cremosa de sorvete. Posteriormente, o composto foi acondicionado em repouso por 24 h a -10 °C para realizar a análise de parâmetros sensoriais e físico-químicos.

Nas análises físico-químicas, o pH foi mensurado por pHmetro de bancada (Mod.: Meter, 921) com a calda a 25 °C. No teste de resistência ao derretimento, adaptado de Mendonça (2018), utilizou-se balança analítica, peneira de nylon 100 mm, funil de vidro e suporte de aço inox – tripé, relógio com cronômetro digital e 50g da amostra do sorvete produzido nos ensaios e armazenados a -12 °C conforme especificações do Sebrae (2020). O teor de açúcar foi realizado com o refratômetro digital portátil 0 -50 ºBrix - marca CTR séries e o percentual de lipídeos foi determinado, como adaptações, pelo método de Bligh-Dyer (1959). Assim, as etapas da produção e análises podem ser visualizadas no fluxograma abaixo (Figura 1).

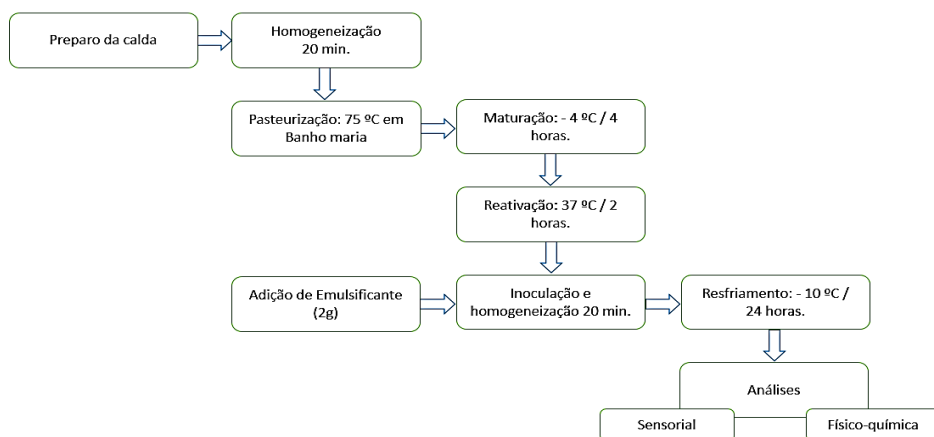



Figura 1: Fluxograma evidenciando as etapas de produção de sorvete probiótico de *T. granflorum* (cupuaçu).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios resultaram na produção 0,35 L um sorvete probiótico contendo *L. acidophilus, e* extrato de *T. granflorum* (cupuaçu) com as seguintes composição (Figura 1), (Tabela 1) e propriedades sensoriais e físico-químicas (Figura 2).

Compostos	Quantidade
Leite desnatado	10 mL
Polpa de Cupuaçu	97,5 g.
Creme de leite semidesnatado	100 g.
Emulsificante	2 g.
Leite condensado semidesnatado	197,5 g.

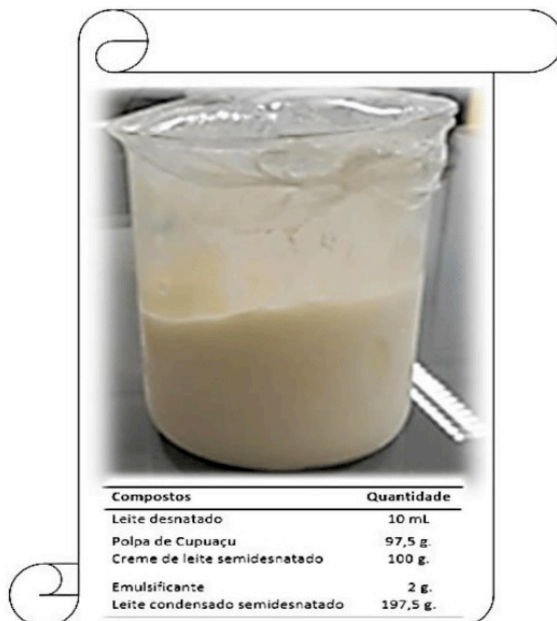



Figura 2: Composição e/ou ingredientes utilizados nos ensaios e que compuseram o sorvete probiótico contendo *L. acidophilus* com extrato de *T. granflorum* (cupuaçu).

A combinação dos compostos, com suas respectivas concentrações nutricionais evidenciadas comercialmente, possibilitam a descrição dos valores percentuais no sorvete probiótico contendo *L. acidophilus* com extrato de *T. granflorum* (cupuaçu) (Tabela 2).

Tabela nutricional		
Energéticos e compostos presentes no sorvete	**Quantidade por porção**	***VD %**
Valor energético	856kcal = 726 Kj	42,28
Carboidratos	103,2g	34,4
Proteína gerais	19g	25,3
Gorduras totais	15g	20
Gorduras saturadas	19.9g	90
Gordura trans	0	0
Fibra alimentar	0	0
Sódio (Na)	312,95mg	13
Cálcio	609mg	60,9
Ferro (Fe)	2,5mg	18
Fósforo (P)	25mg	4
Vitamina A (Retinol)	30mcg	36,50
Vitamina B1(Tiamina)	1755mcg	1

Vitamina B12 (Cobalamina)	209.6mcg	12,28
Vitamina B (Niacina)	3120	164,1
Vitamina C (Ácido Ascórbico)	25,8mg	42,9

*Percentual de Valores Diários (%**VD**) - é um número em percentual que indica o quanto o produto em questão apresenta de energia e nutrientes em relação a uma dieta 2000 calorias.

Tabela 1: Valor energético e concentrações tabuladas em rótulos comerciais adaptados para 0,35 L resultado do preparo do sorvete probiótico.

Fonte: Brasil (2005).

As análises sensorial e físico-química revelaram, nas amostras produzidas, um perfil correspondente aos ingredientes adicionados no preparo do sorvete. Assim, para o perfil sensorial, apresentou cor: creme; sabor: levemente adocicado; textura: cremosa; aroma: suave para cupuaçu. Quanto ao perfil físico-químico, os resultados revelaram o pH de 5,27; taxa de derretimento inicial (TI) e final (TF) para 50g de sorvete a 26 ºC foi de 16 min e 65 min, respectivamente (Tabela 2).

Sensorial				**Físico-química**				
							Taxa de derretimento*	
Cor	**Sabor**	**Textura**	**Aroma**	**pH**	**Índice de refração em ºBrix**	**Lipídeos totais %**	TI**	TF***
Creme	Levemente adocicado	Cremosa	Suave de cupuaçu	5,27	33,2	8,26	16	65

*Taxa de derretimento de 50g de sorvete à 26 ºC.

** Tempo inicial – TI: Primeira gota do derretimento em minutos.

*** Tempo final – TF: Término do derretimento total em minutos.

Tabela 2: Perfil sensorial e físico-químico obtido nos ensaios da produção do sorvete probiótico contendo *L. acidophilus* e extrato de *T. granflorum* (cupuaçu).

Os dados contendo a composição e ingredientes utilizados nos ensaios encontram-se listados na Figura 1 e Tabela 1 e possibilitam relacionar os ensaios da produção do sorvete probiótico com cepas comerciais de *L. acidophilus* e extratos de *T. granflorum* (cupuaçu). Além disso, foi possível evidenciar as relações com as normas presentes na Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde e literatura científica como um alimento funcional. Assim, dados presentes na “portaria número: 398 de 30/4/1999 da agência nacional de vigilância

sanitária do Ministério da Saúde" (Brasil, 1999) caracteriza como alimento funcional todo alimento ou ingrediente que, além das nutrições básicas quando consumidas na dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ ou fisiológicos e/ou benefício à saúde, devendo ser seguro para o consumo sem supervisão médica. Ou ainda, pode ser classificado de acordo com o alimento em si ou conforme os componentes bioativos nele presentes como, por exemplo, os probióticos, as fibras, os fitoquímicos, as vitaminas, os minerais, as ervas, os ácidos graxos ômega 3 (ω-3), além de determinados peptídeos e proteínas (Arvanitoyannis, Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005).

A presença do *L. acidophillus* no sorvete probiótico desenvolvido neste estudo, adicionado como um dos requisitos probióticos apresentou-se, teoricamente, após a adição na calda posteriormente congelada. Dados da literatura científica mostram que o congelamento e descongelamento em produtos probióticos - como o sorvete, causam injúrias às células como morte celular, influência associada à inibição do desenvolvimento e redução ou interrupção das suas atividades metabólicas. Por outro lado, diferentes estudos mostrando que temperaturas mais baixas podem assegurar maior taxa de sobrevivência e que a mortalidade aumenta com o tempo de armazenamento (Alamprese *et al.*, 2002).

Pesquisas com sorvetes probióticos já vêm sendo realizadas. Destas, as de Basyigit, Kuleasan, Karahan (2006) avaliaram uma mistura de cepas de *L. acidophilus, L. agilis* e *L. rhamnosus* de origem humana e verificaram que as características e viabilidade como probióticos não foi alterada durante o processo de armazenamento por até 6 meses, após congelada, independentemente da presença de açúcares ou aspartame como edulcorantes, agentes que podem, comumente, proporcionar alterações no produto. Dados não verificados neste estudo.

Quanto à avaliação sensorial (Tabela 2), realizada de forma amostral com sete provadores voluntários não treinados que participaram da análise e apresentavam faixa etária entre 16 e 49 anos, sendo 3 do sexo masculino e 4 do sexo feminino. Revelaram que o produto, ainda que em fase de ensaios iniciais, mostram 4 parâmetros aceitáveis ao paladar e, possivelmente, com potencial comercial. Contudo, cita-se que para que o produto seja considerado "aceito sensorialmente" deve-se ter um índice de aceitabilidade de no mínimo 70% (Dzazio, 2007). Assim, embora seja um ensaio inicial e amostral com provadores, apresentou 100 % de aceitabilidade e com indicativo para potencial consumo.

No que se refere às avaliações físico-químicas, o pH de 5,27 obtido nos ensaios foi próximo ao obtido no trabalho Carlos *et al.* (2019). Nestes, também com cupuaçu, apresentaram valores de 5,48±0,02, 5,36±0,02 e 5,33±0,03. No entanto, sugere-se que as pequenas variações podem estar associadas à origem da polpa e/ou a presença de outros ingredientes utilizados. Dados presentes na literatura científica mostram que o tipo de fruta utilizada na formulação de sorvetes pode influenciar nos parâmetros de pH e acidez titulável, como já citado por Correia *et al.* (2008). Além disso, ressalta-se que os valores de pH para o padrão de identidade e qualidade de polpas de frutas de cupuaçu, determina como pH

mínimo o valor de 2,6 (Brasil, 2000). Por outro lado, Silva Junior (2008) cita que o pH associado à mistura para o sorvete situa-se em torno de 6,3. Adicionalmente, descreve que a redução no pH pode ser benéfica na medida que leva a proteína para regiões próximas ao seu ponto isoelétrico, a repulsão entre grupos de mesma carga elétrica é reduzida e, com isto, o aumento da interação de proteína-proteína favorece a formação de uma segunda camada que absorve ao redor dos glóbulos de gordura, aumentando a estabilidade do sistema - dados que podem corroborar com o perfil e processo de estabilidade do sorvete. No que se refere ao teor de açúcar (′ 33,2%) e lipídios (′ 8,26%) (Tabela 02), diferem do estudo de Ordóñez (2005) que cita como concentração média de açúcar entre 12 a 17 % e de gordura de 10 a 17%. Contudo, as diferenças podem ser justificadas pelos relatos de Arbuckle (2000) que descreve que os sorvetes podem ser variados e complexos, sendo possível a produção de diversos tipos de combinações e proporções dos ingredientes.

Quanto à análise da taxa de derretimento associado a taxa de lipídeos, Pinheiro e Penna (2004) e Carlos *et al.* (2019) citam que a gordura é um dos ingredientes mais importantes no sorvete e geralmente constituindo de 28 a 38% dos sólidos totais presentes na mistura, podendo variar com a formulação. Além disso, por se encontrar em suspensão, e ressaltam que ela pode aumentar a viscosidade do sorvete e não influenciar o seu ponto de congelamento. Ademais, observa-se que quanto maior a quantidade de gordura na formulação, menor a quantidade de água, o que proporciona o aumento da resistência à fusão, ou seja, prolongando o tempo de derretimento do produto, observado o tempo final de derretimento (65 min.).

Um outro ingrediente, presente no sorvete probiótico deste ensaio, que pode influenciar nas propriedades analisadas são as proteínas. Na mesma relação com os lipídeos, estas são importantes para a qualidade do sorvete, pois contribuem na absorção dos glóbulos de lipídeos durante a homogeneização, influenciam no batimento, aumento da viscosidade e no processo de emulsificação (Varela; Pintor; Fiszman, 2014). No entanto, assim como no trabalho de Calos *et al.* (2019), embora sugira-se esta influência, não se observou a relação entre a proteína e a gordura como um fator determinante para interferir no comportamento dos sorvetes durante o derretimento.

CONCLUSÕES

Os ensaios possibilitaram a produção de um sorvete com potencial probiótico contendo cepas comerciais de *L. acidophilus* e extrato de *T. granflorum* (cupuaçu). Os dados adicionais, associados aos ingredientes previamente avaliados pelas fontes industriais, sugerem que o produto pode apresentar agregados de potencial nutricional e valores funcionais, assim como dados das orientações pré-estabelecidas por Brasil (2003) na resolução - RDC 267.

Adicionalmente, o sorvete apresentou dados nas avaliações sensoriais e físico-

químicos similares aos padrões da literatura científica e aceitos pelos provadores. Entretanto, o desafio no desenvolvimento de um sorvete probiótico é alcançar atributos peculiares funcionais que possam proporcionar, além dos fatores sensoriais e nutricionais aceitáveis, benefícios à saúde humana. Assim, os resultados permitem inferir que o produto possui propriedades, nutricionais, sensoriais e físico-químicas promissoras para, após avaliações completares de caracterização, produção em escala comercial.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Rondônia – IFRO, ao DAPE e DEPEX do *Campus* Porto Velho Calama e aos membros do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia pelo apoio e colaboração nos trabalhos.

REFERÊNCIAS

ALAMPRESE, C.; FOSCHINO, R.; ROSSI, M.; POMPEI, C.; CORTI, S. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG addition in ice cream. **Int. J. Dairy Technol.,** v. 58, p. 200-206, 2005.

ALMEIDA, R. C. C.; MATOS, C. O.; ALMEIDA, P. F. Implementation of a HACCP system for on-site hospital preparation on infant fórmula. **Food Control**., v. 10, n. 3, p. 181-187, 1999.

ANDRIGHETTO, C.; GOMES, M. I. F. V. Produção de picolés utilizando leite acidófilo. **Braz. J. Food Technol.,** v. 6, n. 2, p. 267-271, 2003.

ARBUCKLE, W.S. **Ice cream.** 4. ed. Aspen: Chapman & Hall, 2000.

ARVANITOYANNIS, I. S.; HOUWELINGENKOUKALIAROGLOU, M. V. Functional foods: a survey of health, claims, pros and cons, and current legislation. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr**., v. 45, p. 385-404, 2005.

BASYIGIT, G.; KULEASAN, H.; KARAHAN, A. G. Viability of human-derived probiotic lactobacilli in ice cream produced with sucrose and aspartame. **J. Microbiol. Biotechnol.,** v. 33, p. 796-800, 2006.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J.; Can. **J. Biochem. Physiol**, v. 37, p. 911, 1959.

BELUZZO, R. A valorização da cozinha regional. *In*: ARAÚJO, W. M. C.; TENSER, C. M. R. (Org.). **Gastronomia: cortes e recortes.** Brasília: Senac, p.181-188. 2005.

BRASIL. Instrução Normativa nº 01/00, de 07/01/00. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54-58.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Rotulagem Nutricional Obrigatória Manual de Orientação aos Consumidores Educação para o Consumo Saudável. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Alimentos regionais brasileiros, 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 484 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999.

BRASIL, Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 267, de 25 de setembro de 2003. Regulamento técnico de boas práticas de fabricação para estabelecimentos industrializadores de gelados comestíveis e a lista de verificação das boas práticas de fabricação para estabelecimentos industrializadores de gelados comestíveis. Brasília-DF: Ministério da Saúde.

CARLOS, S. A.V.; AMARAL L. A.; SANTOS M. M. R.; SANTEE C. M.; ZAMPIERI D. F. Elaboração de Sorvete de cupuaçu utilizando fibra de casca de maracujá como substituto de gordura, **Evidência**, Joaçaba v. 19, n. 1, p. 23-44, jan./jun. 2019.

COHEN, K, O.; JACKIX, M. N. Estudo do liquor de cupuaçu. Ciênc. Tecnol. Aliment. v. 25, n. 1, Campinas, jan./mar., 2005.

CORREIA R. T. P.; MAGALHÃES M. M. A.; PEDRINI M. R. S., CRUZ AVFD, CLEMENTINO I. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Rev. Ciênc. Agron.** v. 39, n. 2, p: 251-6, 2008.

DZAZIO, C. H. et al. **Estudo de aceitação sensorial de sorvete de abacaxi pérola com substituição da glucose de milho por mel e aproveitamento do suco da casca na calda.** *In*: SEMANA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2, 2007, Ponta Grossa. Anais... Ponta Grossa: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007.

GOLDBERG, I. (ED.) **Functional foods – designer foods, pharmafoods, nutraceuticals.** Chapman & Hall, Inc., 1994, New York, 571p.

HAVENAAR, R.; HUIS IN’T VELD, M. J. H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B.J.B. Lactic acid bacteria in health and disease. Amsterdam: **Elsevier Applied Science**, p. 151-170, 1992.

IAROS, C. C.; PINHEIRO, T. W. **Elaboração de sorvete sem lactose enriquecido com inulina**. 2016. – 44 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso Tecnologia em Alimentos – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2016.

MENDONÇA, V, E. **Propriedades físico-químicas e sensoriais de gelado comestível elaborado com farinha de ervilha.** TCC (Graduação) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Nutrição, Vitória de Santo Antão, p. 64, 2018.

ORDÓÑEZ, P. J. **Tecnologia de alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005

OROSCO, I. M.; KUNIGK, C. J. **Influência do preparo do inóculo na sobrevivência de bactérias probióticas encapsuladas liofilizadas.** Instituto Mauá de Tecnologia, 2012.

PINHEIRO M. V. S.; PENNA A. L. B. Substitutos de gordura: tipos e aplicações em produtos lácteos. **Alim. e Nutr.**, v. 15, n. 2: p:175-86, 2004.

PINTO, L. P. S.; ALMEIDA, P. C.; BARACHO, M.; SIMIONI, P. U. O uso de probióticos para o tratamento do quadro de Intolerância à Lactose, **Revista Ciencia & Inovação** - FAM - v. 2, n. 1 - Dez – 2015.

RAMOS, F, A. **Avaliação de aspectos físico-químicos, sensoriais e reológicos de sorvete gourmet elaborado com teor reduzido de lactose.** Universidade federal de juiz de fora pós-graduação em ciência e tecnologia do leite e derivados mestrado profissional em ciência e tecnologia do leite e derivados, 2016.

RUEMMELE, F. M. Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 48, n. 2, p:126-41, 2009.

SAAD, S., M., I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 42, n. 1, jan./mar., 2006.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE. Cartilha de boas práticas de fabricação na indústria de gelados comestíveis. Disponível em: <https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/18e69ee9eca639b33372eefdf6ecfb4e/$File/7574.pdf>. Acesso em março de 2020.

SHA, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v.17, n. 11, p.1262-1277, nov of 2007.

SILVA JUNIOR, E. **Formulações especiais para sorvetes.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. São Paulo, p. 133, 2008.

VARELA, P.; PINTOR, A.; FISZMAN, S. How hydrocolloids affect the temporal oral perception of ice cream. **Food Hidrocolloids**, v. 36, p. 220-228, 2014.

CAPÍTULO 8

NANOPARTÍCULAS DE COBRE BIOSSINTETIZADAS PELO FUNGO ENDOFÍTICO *Phaeoacremonium* sp. ISOLADO DAS AMÊNDOAS DE *Bertholletia excelsa* DUCKE

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 10/11/2020

Edmilson dos S. Morais
Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas
Universidade Federal do Amapá
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/2211922838351131

Fabrício H. Holanda
Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas
Universidade Federal do Amapá
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/8892832864166481

Beatriz L. Ferreira
Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas
Universidade Federal do Amapá
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/3158135285326495

Iracirema S. Sena
Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas
Universidade Federal do Amapá
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/0939326659266059

Adilson L. Lima
Laboratório de Controle Biológico, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/3934576346924533

Victor H. de Souza Marinho
Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas
Universidade Federal do Amapá
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/2869222291196173

Irlon Maciel Ferreira
Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada, Departamento de Ciências Exatas
Universidade Federal do Amapá
Macapá, Amapá, Brasil
http://lattes.cnpq.br/9897023410899133
https://orcid.org/0000-0002-4517-0105

RESUMO: A biossíntese de nanopartículas metálicas é uma alternativa viável, rápida, de baixo custo quando comparado aos métodos químicos e físicos tradicionais. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de biossíntese de nanopartículas de cobre pelo fungo endofítico *Phaeoacremonium* sp. isolado de *Bertholletia excelsa* (Castanha-do-Brasil). As nanopartículas de cobre foram obtidas com excelentes valores de até 66.84 nm e potencial zeta de -34 mV, demostrando a capacidade metabólica deste metal pelo o fungo endofítico endofítico *Phaeoacremonium* sp. O uso desses fungos para tal finalidade não só valoriza a biodiversidade amazônica, mas também utiliza processos mais limpos e baratos, fazendo parte do conceito de Química Verde.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos endofíticos; Nanopartículas de cobre; Nanopartículas metálicas; Castanha-do-Brasil; Biocatálise.

COPPER NANOPARTICLES BIOSYNTHESIZED BY THE ENDOPHYTIC FUNGUS *Phaeoacremonium* sp. ISOLATED FROM THE ALMONDS OF *Bertholletia excelsa* DUCKE

ASBTRACT: The biosynthesis of metallic nanoparticles is a viable alternative, fast, low-cost when compared to traditional chemical and physical methods. In this sense, the objective of this work was to evaluate the capacity of biosynthesis of copper nanoparticles by the endophytic fungus *Phaeoacremonium* sp. isolated from *Bertholletia excelsa* (Brazil nut). Copper nanoparticles were obtained with excellent values up to 66.84 nm and zeta potential of -34 mV, demonstrating the metabolic capacity of this metal by the endophytic endophytic fungus *Phaeoacremonium* sp. The use of these fungi for this purpose not only values Amazonian biodiversity, but also uses cleaner and cheaper processes, being part of the Green Chemistry concept.
KEYWORDS: Endophytic fungi; Copper nanoparticles; Metallic nanoparticles; Brazil nuts; Biocatalysis.

1 | INTRODUÇÃO

A síntese biológica, de nanopartículas metálicas, pode ser realizada por diferentes microrganismos como: bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Os fungos apresentam algumas vantagens neste processo, entre elas facilidade de isolamento e cultivo, capacidade de adaptação aos meios contendo metais pesados, bioacumulação de íons, dentre outros (Vijayanandan e Balakrishnan 2018). Outro fator interessante é a participação de enzimas extra- e intracelulares no processo de biotransformação: polipeptídeos, proteínas, açúcares ou cofatores do tipo redutase orgânica, produzidos por processos metabólicos que agem sobre o sal metálico reduzindo-o a nanopartículas metálicas, tal processo pode ocorre de duas formas: intracelular, quando o fungo engloba o sal metálico para ação de suas enzimas e extracelular, ocorre na ação dos metabólitos secundários, indiretamente, sobre o sal metálico (Nayak, Nanda e Prabhakar 2018, Nanda, Nayak e Krishnamoorthy 2018, Hassan et al., 2018).

Dentre os fungos utilizados para síntese “verde” de metais, os endofíticos se destacam-se, principalmente por ser patogênicos ao homem, e podem se ambientar por todo ou parte do seu ciclo reprodutivo em associação com plantas, sem causar graves danos ou doenças (Yang et al. 2018, Kusari, Pandey & Spiteller 2013).

Assim, os fungos endofíticos são recursos potentes para a síntese de nanopartículas metálicas, quando comparados com plantas, bactérias, leveduras e até mesmo com o outros métodos químicos e físicos, pois apresentam vantagens como: rapidez no seu processo, adaptabilidade, bom rendimento, temperaturas brandas e o não uso de substâncias tóxicas (Seetharaman et al. 2018).

Neste sentido, este estudo teve como objetivo a biossíntese de nanopartículas metálicas de cobre pelo fungo endofítico *Phaeoacremonium* sp. Isolado de amêndoa de *Bertolletia excelsa* Ducke (Castanha-do-Brasil).

2 | EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes químicos, solventes e meios de cultura

O sal de $Cu(NO_3)_2$ (98,5%) utilizado foi adquirido pela Synth. Todos os sais utilizados no preparo do tampão fosfato foram adquiridos da Vetec. O meio de cultura utilizado foi o extrato de Malte obtido da HiMedia RM004B. Etanol (99%), D-glucose (≥ 99,5%) e ascorbato de sódio (99%), foram adquiridos da Sigma-Adrich.

2.2 Isolamento de fungos endofíticos *Phaeoacremonium* sp. a partir das sementes de *Bertholletia excelsa*

O isolamento do fungo endofítico foi realizado pelo método descrito por Yang et al., (2018) e armazenado de acordo (Kelly et al., 2017) no Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada da Universidade Federal do Amapá (Unifap). As sementes de *Bertholetia excelsa* (castanha-do-Brasil) foram cedidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Amapá, Brasil, em duas áreas: 1 - W 52 ° 18'20,976 "e S 0 ° 33'44,44" e 2 - W 51 ° 57'53,338 "e S 0 ° 25'21,39" (Ao sul do Estado do Amapá, no município de Laranjal do Jarí). Após a coletas, retirou-se as amêndoas e realizou-se o processo de assepsia, sequencialmente com hipoclorito de sódio, álcool 70% e água destilada, seguindo os métodos descrito por Barnet (1998). Após esta etapa, as amêndoas foram transferidas para placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril e incubadas em B.O.D a uma temperatura de 28° C por 7 dias. As placas foram avaliadas diariamente até o desenvolvimento das colônias fúngicas.

2.3 Identificação do fungo endofítico de *Bertolletia excelsa* Ducke

O fungo endofítico (*Phaeoacremonium* sp.) utilizado neste trabalho foi identificado por métodos convencionais e moleculares no Centro de Pesquisa Pluridisciplinar Química, Biológica e Agrícola (CPQBA, https: //cbmai.cpqba. unicamp.br) na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), SP, Brasil.

Figura. 1. Placa de Petri contendo o fungo *Phaeoacremonium* sp. em meio malte 2%.

2.4 Crescimento micelial do fungo *Phaeoacremonium* sp. em um meio sólido

O *Phaeoacremonium* sp. foi cultivado em placas de Petri contendo o extrato de malte (20,0 g L^{-1}), ágar (20,0 g L^{-1}) e água destilada estéril. O pH do meio foi ajustado para 5, com uma solução de KOH (0,1 mol L^{-1}) ou HCl (0,1 mol L^{-1}). A solução contendo o meio sólido foi esterilizada em autoclave (AV-50, Phoenix, Brasil) por 15 min a 121° C para posteriormente realizar a inoculação do fungo endofítico.

2.5 Biossíntese de nanopartículas de cobre de *Phaeoacremonium* sp.

Fragmentos (4 discos de 5 mm de diâmetro) da meio sólido contendo esporos do fungo *Phaeoacremonium* sp. em foram transferidos para um meio líquido (100 mL), contendo extrato de malte a 2% em pH 5. Os micélios foram incubados a 28° C e 150 rpm por 5 dias em agitador shaker (LUCADEMA 222; Brasil), em seguida foram filtrados em funil de Buchner com papel filtro estéril e ressuspenso em quartos diferentes meios contendo co-substratos: etanol, ascobato de sódio e glicose. A biossíntese das nanopartículas foi realizadas com a seguinte descrição: Experimento A (NpCu): 1,5 g (massa úmida) de micélio de *Phaeoacremonium* sp. e 10 mL (0.001 mmol) de solução de $Cu(NO_3)_2$; Experimento B (NpCu + AscNa): 1,5 g (massa úmida) de micélio de *Phaeoacremonium* sp.,10 mL (0.001 mmol) de $Cu(NO_3)_2$, 10 mg de ascorbato de sódio; Experimento C (NpCu + Glic): 1,5 g (massa úmida) de micélio de *Phaeoacremonium* sp. e 10 ml de $Cu(NO_3)_2$ (0.001 mmol), 10 mg de glicose; Experimento D (NpCu + EtOH): 1,5 g (massa úmida) de micélio de *Phaeoacremonium* sp., 10 mL de nitrato de cobre (0.001 mmol), 10 ml de Etanol. Todos os experimentos foram incubados por 5 dias a 28 ^{o}C e 150 rpm. Após esse período (5 dias), filtrou-se e analisou-se o tamanho das partículas no equipamento Zetasizer 5000 (Malvern Instruments, Malvern, UK).

2.6 Análise do tamanho de partícula

A análise do tamanho de partícula e a polidispersidade foram determinadas com espectroscopia de correlação de fotões utilizando um Zetasizer 5000 (Malvern Instruments, Malvern, UK). Cada amostra foi diluída utilizando água de injeção ultrapura (2:1) e filtrada em filtro de seringa (0,22 µm), todas as amostras foram analisadas em triplicatas. O tamanho das partículas foi expresso em diâmetro médio e os dados foram tratados com o software Zetasizer 6.20®.

2.7 Determinação do crescimento radial e caracterização morfológica

Fragmentos de 3 cm de diâmetros de *Phaeoacremonium* sp. foram inoculados em placa de Petri (Malte 2%) e nitrato de cobre (água destilada na concentração 0.001 Mmol em pH 5.0) e incubados a 28 ºC por 7 dias. Como controle, realizou-se o crescimento do fungo sem a presença da solução do metal. O crescimento foi avaliado através de medição do halo radial, por diâmetro da colônia, em milímetros, a cada vinte e quatro

horas de incubação. Todos os resultados foram expressos em média aritmética de triplicata (Alzahrani, 2016).

Para avaliação morfológica dos efeitos do nitrato de cobre sobre os aspectos microscópicos do *Phaeoacremonium* sp., placas de culturas controle e expostas ao metal foram analisas em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Biossíntese de nanopartículas de cobre por fungo *Phaeoacremonium* sp.

Em contraste com os métodos químicos convencionais para a obtenção de NpCu, que usam frequentemente brometo de cetiltrimetil amônio ou borohidreto de sódio em temperaturas altas que podem chegar a 75 °C (Gawande et al., 2016), os métodos biocataliticos, utilizam condições mais suáveis e mais brandas. Baseado nisso, utilizou-se células inteiras do fungo endofítico *Phaeoacremonium* sp. na tentativa de obter NpCu. Os resultados obtidos foram satisfatórios, uma vez que o fungo foi capaz de produzir NpCu de tamanho até 66.84 nm por 7 dias em fermentação (**Figura 2 A**).

Quando a solução de glicose foi adicionada ao meio celular microbiano contendo a solução de $CuNO_3$ foi obtida partículas de 96.26 nm. O objetivo da gliclose como co-substrato foi de estimular enzimas do tipo glicose oxidase da classe das oxidasse (Yoshida et al. 2015) presentes nas células do fungo endofítico *Phaeoacremonium* sp. No entanto, o valor da nanopartícula determinado por DLS para esta condição apresentou valor maior que ao determinado pelas células microbianas somente em meio tamponado. Tal resultado indicou que o meio rico em glicose não foi favorável para a síntese de NpCu pelo fungo endofítico *Phaeoacremonium* sp.

As NpCu a partir do meio microbiano de *Phaeoacremonium* sp. contendo solução de ascobato de sódio apresentaram 153.6 nm, e o potencial zeta determinado foi de -36.6mV (**Figura 2 B**), o alto potencial zeta negativo, neste caso, pode indicar a presença do ácido ascórbico aderida na superfície da NpCu, que devido ao efeito de desprotonação do grupo carboxila derivado do ácido (Jiang et al., 2018).

Já o meio microbiano contendo o etanol como co-substrato apresentou nanopartículas de tamanhos médios de 93 nm e -34 mV de potencial zeta (**Figura 2**). O etanol na reação de biotransformação pode atuar como co-fator pelas células dos fungos filamentoso *Phaeoacremonium* sp. (Schrewe et al., 2013) e paralelamente pode ser usado para purificar e fracionar seletivamente o tamanho modificado hidrofobicamente das nanopartículas (De Waele et al. 2018). O alto valor de potencial negativo observado para a NpCuEtOH, pode estar relacionado ao fato do etanol ou do íon etóxi, forma mais reativa como espécie redutora, no entanto favorável a pH alcalino (Li et al., 2017), pode ser oxidado para o acetaldeído, que consequentemente pode ter seu grupo carboxila desprotonado e

agregado a NpCu.

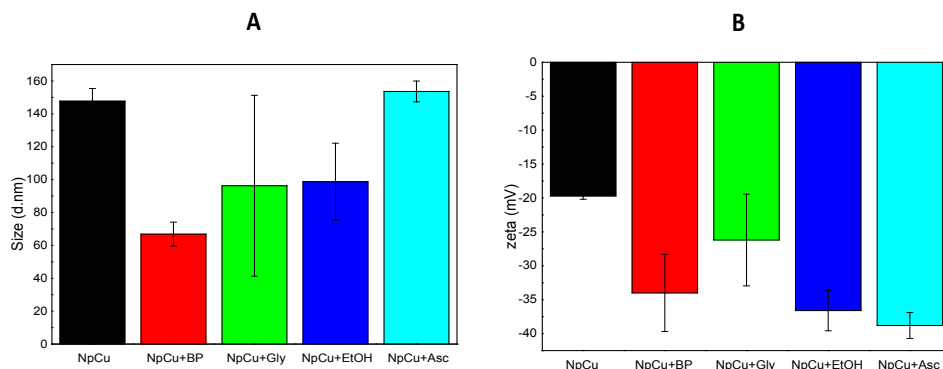



Figura 2: Distribuição do tamanho das nanopartículas biossintetizadas (A); Potencial zeta em diferentes meios (B) partir dos micélios do fungo *Phaeoacremonium* sp.

O melhor resultado para o tamanho de partícula obtidos a partir dos micélios do fungo *Phaeoacremonium* sp. foi em tampão fosfato (pH 5). A distribuição média de tamanho determinada pelas análises de DLS foi de 66.84 nm (**Figura 3**), um excelente resultado quando comparado ao tamanho médio das partículas de NpCu produzidas nas demais condições deste estudo (**Figura 2 A**). Já o potencial zeta das NpCu (Experimento B) foi determinado em -35 mV (**Figura 2 B**), valor relacionado a baixa aglomeração. Geralmente nanopartículas metálicas que apresentam potenciais zeta maiores que + 20 mV e menores que -20 mV são consideradas de alta estabilidade, pois a alta carga dificulta a aglomeração entre as partículas (Vijayanandan and Balakrishnan 2018).

As proteínas extracelulares presentes no filtrado fúngico juntamente com o fosfato são responsáveis pela redução de íons de cobre, Cu^{+} em Cu^{0} (Siddiqi et al., 2018). Estas proteínas têm forte capacidade de se ligar as CuNPs, atuando como agentes de proteção proporcionaram estabilidade (Reverberi et al., 2016).

No entanto, em todos os meios avaliados, o fungo filamentoso *Phaeoacremonium* sp. isolado das amêndoas de *Bertholetia excelsa*, foi capaz de produzir NpCu em tamanhos $^{<}$200 nm.

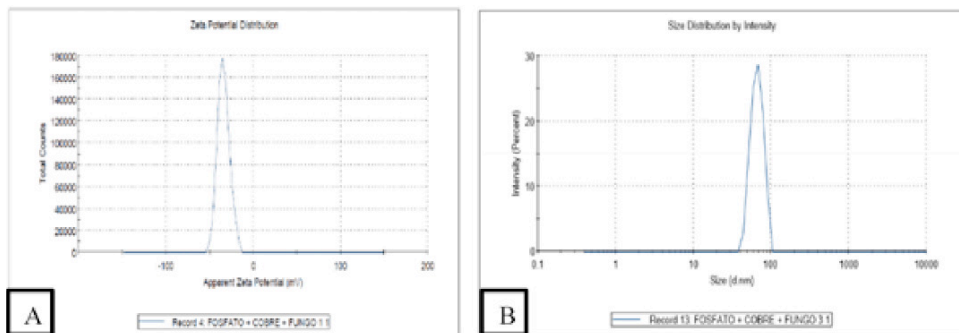



Figura 3: Análise de zeta siser (A) potencial zeta; (B) tamanho de nanopartículas de nitrato de cobre em meio tamponado (pH 5).

A imagem de microscopia eletrônica de transmissão (MET) mostram que, as nanopartículas de cobre obtidas pelo processo de biossíntese pelo fungo filamentoso *Phaeoacremonium* sp. isolado das amêndoas de *Bertholetia excelsa*, apresenta formas alongadas do tipo cilíndricas aglomeradas (**Figura 4**).

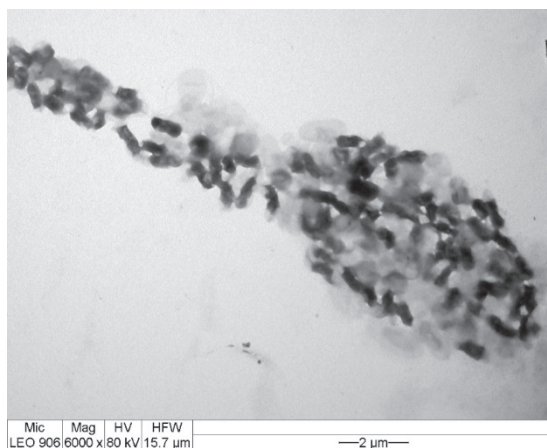



Figura 4: Análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET) das nanopartículas de cobre produzidas pelo fungo *Phaeoacremonium* sp. isolado das amêndoas de *Bertholetia excelsa.*

3.2 Efeitos do nitrato de cobre sobre o crescimento e morfologia de *Phaeoacremonium* sp.

Ao analisar o crescimento radial das colônias (**Tabela 1**), notou-se uma inibição perceptível sobre o crescimento do fungo até o quarto dia de experimento, para o meio contento a solução metálica. A partir do quinto dia foi possível observar que o crescimento médio das colônias foi maior em comparação ao grupo controle. Provavelmente esse

crescimento deve-se a resistência do fungo na presença do cobre, sugerindo o fenômeno da bioacumulação de íons metálicos nas células (ANAND et al., 2006).

Crescimento radial fúngico (mm)							
Meio de crescimento	Dias						
	1	2	3	4	5	6	7
Malte 2%	0.1	0.52	0.80	0.81	0.81	0.85	0.75
Malte 2% + Cobre*	0.1	0.18	0.47	0.64	0.85	1.12	1.35

*10 mL (0.001 mmol) de solução de $Cu(NO_3)_2$

Tabela 1: médias do crescimento radial em milímetros em função do tempo, em um período de 7 dias de cultivo.

Os fungos apresentam mecanismos para o transporte dentro de suas células, utilizando uma série de ativos, como ácidos orgânicos simples, álcoois, macromoléculas, polissacarídeos e ácido fúlvico, mucopolissacarídeos e proteínas para sua própria proteção diminuindo os efeitos tóxicos do metal, através de enzimas específicas (TURPEINEN, 2003). Como exemplo, SILVA et al., 2007, utilizou células de fungos ectomicorrízicos tolerantes a cobre, quando em contatos por meio já contendo o metal, apresentaram melhor desenvolvimento. Conforme houve aumento da dose do cobre, maior foi seu crescimento vegetativo.

Outro estudo de grande relevância foi realizado por GAAD (2000), neste trabalho foi relatado que os fungos apresentaram grande capacidade de adaptação à presença de metais pesados, sendo este mecanismo explicado por mutações genéticas e adaptações fisiológicas dos fungos em contato com o metal, pois a capacidade de um organismo sobreviver em condições adversas depende da rapidez de suas respostas fisiológicas as condições ambientais.

3.3 Caracterização morfológica do *Phaeoacremonium* sp. por MEV

A **Figura 5** comprada os aspectos morfológicos do fungo *Phaeoacremonium* sp., por análise de microscopia eletrônica de varredura, na ausência e presença do nitrato de cobre no meio de cultivo malte (2%). Foi possível observar alterações morfológicas nas estruturas dos conídios, onde encontram os conidiosporos, afetando de forma discreta os conidios e sua estrutura, além de intensa ramificação.

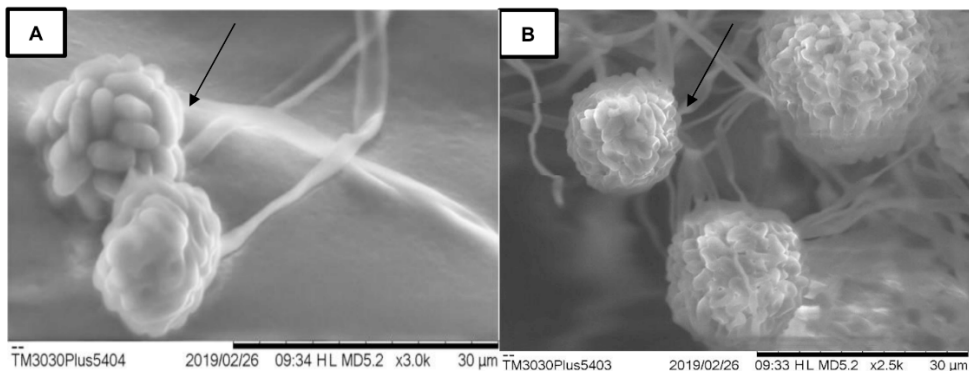



Figura 5: Aspectos morfológicos do fungo *Phaeoacremonium* sp. **A:** Conidíos com ausência de nitrato de cobre; **B:** Conidíos na presença do metal.

Alananbeh et al., (2017) descreveu explicação para o modo de ação do CuNPs, por depleção do metal, um dos modos de ação de CuNPs que forma buracos irregulares na membrana externa e altera a permeabilidade da membrana, que é causada pela liberação progressiva de moléculas de lipopolissacarídeos e proteínas de membrana (Amro et al., 2000). Embora sua inferência envolva algum tipo de mecanismo de ligação que envolva interação entre nanopartículas de Cu e componente(s) da membrana externa, ainda não está claro, sendo necessario estudos mais aprofundados (Dakal et al., 2016).

Turpeinen (2002) pesquisou os fungos filamentosos e constatou maior resistência deles a metais pesados, o que proporciona seu crescimento e desenvolvimento em meios que contêm altas concentrações desses poluentes e detectou que determinadas proteínas protegem o organismo dos efeitos tóxicos do metal, ligando-o a enzimas específicas, podendo ocorrer o transporte do metal através de gradiente quimiosmótico pela membrana citoplasmática, diminuindo seu potencial tóxico (Fromm & Hargrove, 2011).

Neste estudo, o *Phaeoacremonium* sp. mostrou-se capaz de adapta-se ao meio contendo cobre, mesmo sofrendo alterações morfológicas, seu ciclo reprodutivo não é totalmente afetado (Villamizar-Gallardo et al., 2016). Segundo Gadd and Raven (2010), relataram que metabolicamente, ocorre redução celular para que os gastos energéticos sejam controlados, o que ativa processos direcionados a sobrevivência do fungo em um ambiente com condições diferenciadas, quanto a exposição a metais pesados. O cobre, por exemplo, pode causar alterações estruturais nas hifas, deformações da parede celular, danos na membrana e alterações significativas na forma e germinação de esporos em fungos, dependendo da concentração (Lamsal et al., 2011).

4 I CONCLUSÃO

A biossíntese de nanopartículas de cobre mediadas por *Phaeoacremonium*

sp. isolado da Amazônia brasileira, produziram NpCu na faixa de tamanho $<$200 d.nm, com destaque para o meio tamponado (pH 5) que produziu partículas de 66.84 d.nm, apresentando baixa agregação e boa dispersibilidade, oferecendo uma rota mais ecológica para produção de nanopartículas de cobre e de custo relativamente baixo, já que usa microrganismos da biodiversidade amazônica em meio aquoso.

A análise morfologica do *Phaeoacremonium* sp. sobre o crescimento em meio sólido na presenção do cobre, demonstrou alterações morfológicas perceptíveis nas cepas, destacando também a capacidade de adaptação do fungo, revelando a possibilidade de aplicação do *Phaeoacremonium* sp. como indicativo de poluição ambiental.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amapá, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/AP) por ceder às amêndoas de Castanha do Brasil, ao Laboratório de Biologia Estrutural da Universidade Federal do Pará (UFPA) pela análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Microscopia eletrônica de Transmissão (MET) e a CAPES pela bolsa de pós-graduação concedida ao E.S. Morais.

REFERÊNCIAS

Amro, N. A., Kotra, L. P., Wadu-Mesthrige, K., Bulychev, A., Mobashery, S; Liu, G. (2000). High-Resolution Atomic Force Microscopy Studies of the *Escherichia coli* Outer Membrane: Structural Basis for Permeability*. Langmuir, 16(6), 2789–2796.* doi:10.1021/la991013x.

Anand, p., isar, j., saran, s; saxena, r. (2006). Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. *Bioresource Technology, 97 (8), 1018-1025.* doi: 10.1016 / j.biortech.2005.04.046.

Barnet, M.-C. (1998). La femme cent sexes, ou, Les genres communicants : Deharme, Mansour, *Prassinos*. Bern: Lang.

Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S; Yadav, V. (2016). Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Frontiers in microbiology*, *7*, 1831. doi:10.3389/fmicb.2016.01831.

Dellai, A., Silva, R, F., Andreazza, R. (2018). Ectomycorhyza on the growth of *eucalyptus saligna* in soil contaminated with copper. *Ciência Florestal*, v. 28, n. 2, p. 624-631.doi: DOI: http://dx.doi.org/10.5902/1980509832052

Denny, M. S., Kalaj, M., Bentz, K. C; Cohen, S. M. (2018). Multicomponent metal-organic framework membranes for advanced functional composites*. Chemical Science.* doi:10.1039/c8sc02356e.

De Waele, J., V. V. Galvita, H. Poelman, C. Detavernier; J. W. Thybaut (2018) PdZn nanoparticle catalyst formation for ethanol dehydrogenation: Active metal impregnation vs incorporation. *Applied Catalysis A: General,* 555**,** 12-19.doi: 10.1016/j.apcata.2018.02.005

Duan, H., Wang, D; Li, Y. (2015). Green chemistry for nanoparticle synthesis*. Chemical Society Reviews, 44(16), 5778–5792.*doi:10.1039/c4cs00363b.

Fromm, H. J; Hargrove, M. S. (2011). Electron Transport and Oxidative Phosphorylation. *Essentials of Biochemistry, 223–238.*doi:10.1007/978-3-642-19624-9_10.

Gaad, G. M. (2000). Bioremedical potential of microbial mechanism of metal mobilization and immobilization. Current Opinion in Biotecnology. v. 11, p.271-279. doi:10.1016/s0958-1669(00)00095-1

Gadd, G. M; Raven, J. A. (2010). Geomicrobiology of Eukaryotic Microorganisms. *Geomicrobiology Journal, 27(6-7), 491–519.*doi:10.1080/01490451003703006.

Gawande, MB, Goswami, A., Felpin, F.-X., Asefa, T., Huang, X., Silva, R.,… Varma, RS (2016). Nanopartículas à base de Cu e Cu: Síntese e Aplicações em Catálise. *Chemical Reviews, 116 (6), 3722-3811.* doi: 10.1021 / acs.chemrev.5b00482 .

Hassan, S. E. L. D., S. S. Salem, A. Fouda, M. A. Awad, M. S. El-Gamal; A. M. Abdo (2018) New approach for antimicrobial activity and bio-control of various pathogens by biosynthesized copper nanoparticles using endophytic actinomycetes. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences,* 11**,** 262-270.

Jia, B., Mei, Y., Cheng, L., Zhou, J; Zhang, L. (2012). Preparation of copper nanoparticles coated cellulose films with antibacterial properties through one-step reduction. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 4(6), 2897–2902. doi:10.1021/am3007609.

Jiang, M., L. Kou, L. Zhang, G. Li, Q. Yao, L. Shang; Y. Chen (2018) Ascorbate-conjugated nanoparticles for promoted oral delivery of therapeutic drugs via sodium-dependent vitamin C transporter 1 (SVCT1) AU - Luo, Qiuhua. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology,* 46**,** 198-208.

Kamnev, A. A., Tugarova, A. V., Dyatlova, Y. A., Tarantilis, P. A., Grigoryeva, O. P., Fainleib, A. M; DE Luca, S. Methodological effects in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy: Implications for structural analyses of biomacromolecular samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 193*, 558-564, 2018.

Kelly, T. J., I. T. Lawson, K. H. Roucoux, T. R. Baker, T. D. Jones; N. K. Sanderson (2017) The vegetation history of an Amazonian domed peatland. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology,* 468**,** 129-141.doi:10.1016/j.palaeo.2016.11.039.

Kusari, S., S. P. Pandey; M. Spiteller (2013) Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites. *Phytochemistry,* 91**,** 81-87. doi:10.1016/j.phytochem.2012.07.021.

Li, F., H. Weng, Y. Shang, Z. Ding, Z. Yang, S. Cheng; M. Lin (2017) Environmentally friendly and facile synthesis of Rh nanoparticles at room temperature by alkaline ethanol solution and their application for ethanol electrooxidation. *RSC Advances,* 7**,** 3161-3169.

Lamsal, K., Kim, S. W., Jung, J. H., Kim, Y. S., Kim, K. S; Lee, Y. S. (2011). Application of Silver Nanoparticles for the Control of Colletotrichum Species In Vitro and Pepper Anthracnose Disease in Field. *Mycobiology, 39(3), 194–199.*doi:10.5941/myco.2011.39.3.194.

Nagar, N; V. Devra (2018) Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using Azadirachta indica leaves. *Materials Chemistry and Physics,* 213**,** 44-51.doi:10.1016/j.matchemphys.2018.04.007.

Nanda, A., B. K. Nayak; M. Krishnamoorthy (2018) Antimicrobial properties of biogenic silver nanoparticles synthesized from phylloplane fungus, Aspergillus tamarii. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* 16**,** 225-228.doi::10.1016/j.bcab.2018.08.002

Nayak, B. K., A. Nanda; V. Prabhakar (2018) Biogenic synthesis of silver nanoparticle from wasp nest soil fungus, Penicillium italicum and its analysis against multi drug resistance pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* 16**,** 412-418.doi: 10.1016/j.bcab.2018.09.014.

Neethu, S., S. J. Midhun, E. K. Radhakrishnan; M. Jyothis (2018) Green synthesized silver nanoparticles by marine endophytic fungus Penicillium polonicum and its antibacterial efficacy against biofilm forming, multidrug-resistant Acinetobacter baumanii. *Microbial Pathogenesis,* 116**,** 263-272. doi:10.1016/j.micpath.2018.01.033.

Reverberi, A., Salerno, M., Lauciello, S. e Fabiano, B. (2016). Síntese de Nanopartículas de Cobre em Etilenoglicol por Redução Química com Sais de Vanádio *(+2). Materiais, 9 (10), 809.* doi: 10.3390 / ma9100809.

Schrewe, M., M. K. Julsing, B. Bühler; A. Schmid (2013) Whole-cell biocatalysis for selective and productive C–O functional group introduction and modification. *Chemical Society Reviews,* 42**,** 6346-6377. doi:10.1039/c3cs60011d.

Seetharaman, P. K., R. Chandrasekaran, S. Gnanasekar, G. Chandrakasan, M. Gupta, D. B. Manikandan; S. Sivaperumal (2018) Antimicrobial and larvicidal activity of eco-friendly silver nanoparticles synthesized from endophytic fungi Phomopsis liquidambaris. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* 16**,** 22-30. doi:10.1016/j.bcab.2018.07.006.

Siddiqi, K. S., Husen, A; Rao, R. A. K. (2018). A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of Nanobiotechnology, 16(1).*doi:10.1186/s12951-018-0334-5

Turpeinen, R.; virta, M.; häggblom, M.M. Analysis of arsenic bioavailability in contaminated soils. Environmental Toxicology and Chemistry, v.22, n.1, p.1-6, 2003. doi: 10.1002/etc.5620220101 .

Turpein, R. 2002. Interation between metals, microbes and plants - Bioremediation of arsenic and lead contaminated soils, PhD, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

Vijayanandan, A. S; R. M. Balakrishnan (2018) Biosynthesis of cobalt oxide nanoparticles using endophytic fungus Aspergillus nidulans. *Journal of Environmental Management,* 218**,** 442-450. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.04.032.

Villamizar-Gallardo, R., Cruz, J. F. O; Ortíz-Rodriguez, O. O. (2016). *Fungicidal effect of silver nanoparticles on toxigenic fungi in cocoa. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 51(12), 1929–1936.* doi:10.1590/s0100-204x2016001200003.

Visagie, C. M., J. Houbraken, J. C. Frisvad, S. B. Hong, C. H. W. Klaassen, G. Perrone, K. A. Seifert, J. Varga, T. Yaguchi; R. A. Samson (2014) Identification and nomenclature of the genus Penicillium. *Studies in Mycology,* 78**,** 343-371. doi: 10.1016/j.simyco.2014.09.001.

Yang, G., P. Li, L. Meng, K. Xv, F. Dong, Y. Qiu, L. He; L. Lin (2018) Diversity and communities of culturable endophytic fungi from different tree peonies (geoherbs and non-geoherbs), and their biosynthetic potential analysis. *Brazilian Journal of Microbiology,* 49**,** 47-58. doi: 10.1016/j.bjm.2018.06.006.

Yoshida, H., G. Sakai, K. Mori, K. Kojima, S. Kamitori; K. Sode (2015) Structural analysis of fungus-derived FAD glucose dehydrogenase. *Scientific Reports,* 5**,** 13498. doi: 10.1038/srep13498.

CAPÍTULO 9

SÍNTESE HIDROTERMAL DE NANOPARTÍCULAS DE CARBONO A PARTIR DE GLICOSE E UREIA

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 06/11/2020

Pedro Rafael da Cruz Almeida
Universidade Federal de Sergipe
Departamento de Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/2947906108380906

Michael Douglas Santos Monteiro
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão - Sergipe
http://lattes.cnpq.br/8097104264702877

Jonatas de Oliveira Souza Silva
Universidade Federal de Sergipe
Departamento de Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/1361657720395265

José Carlos dos Santos Junior
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/3580411959645679

José Fernando de Macedo
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/3720990598641830

Anderson Alex Conceição Alves
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão - Sergipe
http://lattes.cnpq.br/3685247328156156

Mércia Vieira da Silva Sant'Anna
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/7763110962253466

Eliana Midori Sussuchi
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/8137586721918798

Lucas dos Santos Lima
Universidade Federal de Sergipe
Programa de Pós-Graduação em Química
São Cristóvão – Sergipe
http://lattes.cnpq.br/1131629410192288

RESUMO: Os nanomateriais têm recebido grande atenção científica nos últimos anos, devido à ampla aplicação em diferentes áreas como engenharia, física, química, dentre outras. No presente trabalho foram sintetizadas nanopartículas de carbono (CD) utilizando glicose e ureia como precursores, na proporção de 1:2 (m/m). A síntese foi realizada aplicando o método hidrotermal, utilizando uma estufa a 180 ºC durante 8 horas. O produto de síntese foi caracterizado empregando as técnicas de Espectroscopia de absorção (UV-Vis) e emissão na região do UV-Visível, Espectroscopia Vibracional com Transformada de Fourier na região do Infravermelho (FTIR). As análises por UV-VIS apresentaram três máximos de absorção, sendo duas transições eletrônicas de natureza π-π^* e uma de natureza n-π^*, as quais

são características dos *carbon dots*. As bandas obtidas por FTIR são características dos precursores, como as vibrações de estiramento C=O e N-H, presentes na ureia e a vibração O-H presente na glicose. Além disso, a presença de um estiramento C=C, atribuído à formação de carbonos aromáticos. Os resultados obtidos por essas caracterizações indicam a formação de um material que possui grupamentos pertencentes a ambos os precursores, e características de um nanomaterial da classe dos *carbon dots*, demonstrando facilidade e baixo custo no processo de obtenção quando comparado com alguns trabalhos da literatura.
PALAVRAS-CHAVE: Síntese, *carbon dots*, glicose.

HYDROTHERMAL SYNTHESIS OF CARBON NANOPARTICLES FROM GLUCOSE AND UREA

ABSTRACT: Nanomaterials have received great scientific attention in recent years. This is due to the wide application of these nanostructures in different areas, such as engineering, physics, chemistry, materials sciences, and molecular biology. In the present work, carbon nanoparticles (CD) were synthesized using glucose and urea in the ratio 1:2 (w/w) as precursor structures. The hydrothermal synthesis method was utilized, using an oven at 180 °C for 8 hours. The synthesis product was characterized using the techniques of Absorption Spectroscopy (UV-Vis) and emission in the UV-Visible region, Fourier-Transform Infrared spectroscopy (FTIR). The UV-VIS analysis showed three absorption maximums, two of which are electronic transitions of nature π-π^* and one of nature n-π^*, which is characteristic of carbon dots. The bands obtained by FTIR are characteristic of the precursors, such as the stretching vibrations C=O and N-H, present in urea and the O-H vibration present in glucose. In addition, the presence of a C=C stretch, attributed to the formation of aromatic carbon. The results obtained by these characterizations indicate the formation of a material that has groups belonging to both precursors and characteristics of a nanomaterial in the class of carbon dots, demonstrating facility and low cost in the process of obtaining when compared with some works in the literature.
KEYWORDS: Synthesis, carbon dots, glucose.

1 I INTRODUÇÃO

Os *carbon dots* (CD) são nanopartículas de carbono que apresentam dimensões com diâmetro abaixo de 10 nm, obtidos pela primeira vez durante a purificação de nanotubos de carbono de parede única por eletroforese preparativa em 2004 [1]. Em geral, os CD consistem em uma estrutura de carbono amorfa com domínios cristalinos com, principalmente, hibridização sp^2 e com diferentes grupos funcionais em sua superfície. Os grupos funcionais mais comuns na superfície são os ácidos carboxílicos, os álcoois e o grupo amina. Esses grupos facilitam a solubilidade dos CD em soluções aquosas [23].

Nas últimas duas décadas, os CD têm atraído muita atenção devido às suas propriedades, tais como, alta luminescência, fácil obtenção, baixo custo e boa estabilidade química. Além disso, possuem baixa toxicidade e boa biocompatibilidade quando comparados aos tradicionais *quantum dots* de semicondutores [35].

As propriedades dos CD permitem aplicações em diversas áreas como em bioimagem, devido a sua fluorescência natural, alta resistência à fotodegradação, baixa toxicidade e alta solubilidade em água e outros solventes [6]. Na área de iluminação do estado sólido sendo utilizados como LED, em virtude de sua estável emissão de luz, o baixo custo e por não agredir o ambiente [7]. Na catálise devido à sua propriedade de rápida transferência de elétrons [8]. Como biosensores e sensores eletroquímicos, pela facilidade na transferência eletrônica o que junto aos grupos funcionais presentes nas nanopartículas promovem melhora nas respostas analíticas, devido o aumento das interações entre o sensor e o analito, permitindo o uso de técnicas voltamétricas para essa aplicação [9-10].

As rotas sintéticas dos CD podem ser divididas em dois grupos principais: *Top-down* e *Bottom-up*. O tipo *Top-down* envolve a clivagem ou quebra de materiais de carbono volumosos, como carboidratos, fuligem de carbono, fibras de carbono, carvão ativado, etc., por meio de abordagens químicas, eletroquímicas ou físicas. Todo o mecanismo de formação depende da quebra da ligação entre os átomos de carbono [5,11].

O tipo *Bottom-up* envolve a pirólise ou carbonização e condensação de pequenas moléculas orgânicas. Geralmente, as moléculas orgânicas passam por quatro estágios na formação de CD: condensação, polimerização, carbonização e passivação. Na etapa de condensação, os pequenos precursores de moléculas orgânicas podem formar intermediários de compostos de cadeia por uma reação de condensação ou uma reação radicalar. Na polimerização, os intermediários são agregados, semelhantes aos polímeros, por interações covalentes, não covalentes ou outras interações. Na carbonização, os polímeros carbonizam para formar o núcleo de carbono, especialmente a altas temperaturas. Por fim na passivação, os precursores residuais, são incorporados como agentes passivadores de superfície dos CD para melhorar a eficiência da luminescência, dentre outras propriedades [5,11]. Os esquemas de rotas sintéticas são apresentados na Figura 1.

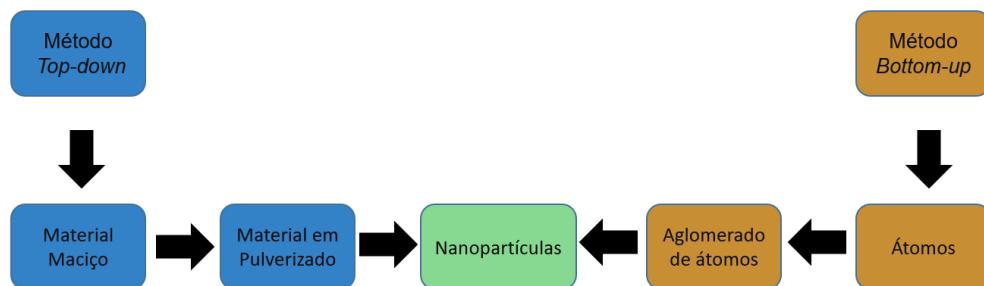



Figura 1: Processos sintéticos de CD.

Fonte: adaptado de [4].

No método de síntese *Top-down,* as técnicas que mais se destacam são arco-elétrico, ablação por laser, oxidação eletroquímica e tratamento ultrassônico. No entanto, essa abordagem traz consigo inconvenientes como a exigência de materiais caros, condições adversas de reação e longo tempo de reação. Já no *Bottom-up,* existem as técnicas que utilizam microondas, decomposição térmica, carbonização, pirólise, tratamento solvotérmico e o tratamento hidrotérmico.

Todos as técnicas de síntese têm suas vantagens e desvantagens, por exemplo: o método oxidação eletroquímica/química. Nessa abordagem há as vantagens de controle de tamanho da partícula e da nanoestrutura, além de ser estável e ser realizado, normalmente, em um único passo. Entretanto, poucos trabalhos são reportados, em que os precursores são capazes de sintetizar nanopartículas por essa estratégia [6]. Ou então, o método de ablação por laser, o qual é rápido, eficiente e possibilita o ajuste do estado da superfície do CD, mas tem pouco rendimento quântico e pouco controle no tamanho da partícula [7].

No entanto, o método mais utilizado, atualmente, é o de síntese hidrotermal, devido ao seu baixo custo e baixa toxicidade. Esse processo de síntese, geralmente, consiste na adição dos precursores e de água a um reator hidrotermal, o qual é selado e aquecido. Esse aquecimento é realizado a uma temperatura maior que a temperatura de ebulição da água devido à pressão interna gerada no reator pelo próprio aquecimento. Muitos precursores são utilizados para realizar a síntese dos CD por rota hidrotermal como glicose, ácido cítrico, quitosana, proteínas, etc. o que demonstra um dos motivos para a baixa toxicidade e custo do método, além do uso da água como solvente [5-7,12].

Além da busca na literatura, foi realizada uma pesquisa de patentes utilizando as palavras-chave *"synthesis and carbon dots and glucose"* na opção de resumo ou título na plataforma do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), nenhum resultado foi obtido. Pela plataforma Espacenet, utilizando as palavras-chave "*Synthesis and carbon dot and glucose*" 4 patentes foram relacionadas com o trabalho: "*Nitrogen-sulfur double-doped carbon quantum dot, preparation method therefor and application thereof"; "Method for simultaneously preparing carbon quantum dots and carbon nanometer balls, and product thereof"; "Preparation method of carbon quantum dot/bismuth molybdate nano-sheet composite photocatalytic material"; "Fluorescence-enhanced carbon quantum dots and preparation method thereof".* Já pela plataforma *World Intellectual Property Organization* (WIPO), com as palavras-chave "*Synthesis and carbon dot and glucose*" na opção *front page* e na opção full text, as 4 patentes supracitadas foram encontradas novamente, demonstrando a inovação possibilidade de realizar uma patente com este trabalho.

Assim, o presente trabalho sintetizou e caracterizou nanopartículas da classe dos *carbon dots* com o objetivo de aplicá-las no desenvolvimento de novas tecnologias.

2 | METODOLOGIA

Neste segmento, serão descritos os reagentes e os procedimentos utilizados para a obtenção dos resultados.

2.1 Reagentes

Na Tabela 1, são identificados os reagentes utilizados para os processos realizados.

Reagentes	Fórmula Molecular	Fabricante	Grau de pureza (%)
Água ultrapura	H_2O	Milli-Q	-
Glicose	$C_6H_{12}O_6$	Alphatec	99,97%
Ureia	$(NH_2)_2CO$	Vetec	99,98%
Hidróxido de Sódio	NaOH	IMPEX	99,99%
Brometo de Potássio	KBr	Dinâmica	99,99%
Etanol	C_2H_5OH	Dinâmica	99,95%
Acetato de Polivinila (PVA)	$(C_4H_6O_2)_n$	Neon	99,99%

Tabela 1: Reagentes utilizados durante os procedimentos experimentais.

2.2 Síntese dos *Carbon dots*

Para a síntese dos CD, foram utilizados 3,00 g de glicose e 6,00 g de ureia. A mistura foi dissolvida em 30,00 mL de água ultrapura. Em seguida, a solução obtida foi agitada mecanicamente durante 30 minutos. Após esse período, a solução foi transferida para uma autoclave de teflon com capacidade de 85,00 mL. O recipiente foi levado à estufa a 180 ºC durante 8 horas. Ao final da síntese, a autoclave foi resfriada à temperatura ambiente. O material obtido foi misturado com 60,00 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1,25 mol.L^{-1} e a mistura resultante foi rotaevaporada a 70 ºC e 60 rpm. Em seguida, o sólido foi coletado com etanol, formando-se uma suspensão dos CD, e essa suspensão foi transferida para um tubo falcon o qual foi armazenado sob refrigeração e na ausência da luz [13-14].

2.3 Caracterização dos *Carbon dots*

Os CD foram caracterizados por Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível, Espectroscopia Vibracional na Região no Infravermelho, Espectroscopia de Emissão na Região do Ultravioleta-Visível.

2.3.1 Espectroscopia Vibracional de Absorção na Região do Infravermelho

As análises foram realizadas por meio de um equipamento Varian 640 – IR com o intuito de verificar a presença dos principais grupos funcionais do CD. Para isso, pastilhas foram preparadas ao macerar e prensar brometo de potássio (KBr) e CD. As análises foram realizadas na região de 4000 a 400 cm^{1}.

2.3.2 Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do UV-Visível

Através de um espectrofotômetro Varian Cary 100 Scan UV-Visible Spectrophotometer, foram realizadas as análises da suspensão dos CD, na região de 200 a 800 nm, visando à obtenção do comprimento de onda de máxima absorção. Duas cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico foram preenchidas, uma com etanol para ser realizado o branco e outra com a suspensão de CD.

2.3.3 Espectroscopia de Fluorescência

As análises de espectroscopia de fluorescência foram realizadas em um espectrofluorímetro JascoFP – 8600 na região de 200 a 800 nm. Foi utilizada uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico e a suspensão de CD. Com essa análise, foi determinado o comprimento de onda de excitação no qual há uma maior intensidade de emissão.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste tópico serão discutidos os resultados que foram obtidos através das técnicas de caracterização e pela análise eletroquímica dos CD.

3.1 Espectroscopia Vibracional de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A análise pela espectroscopia vibracional indiciou a formação de um composto que permanece com os principais grupos funcionais de seus precursores, como pode ser observado na Figura 2.

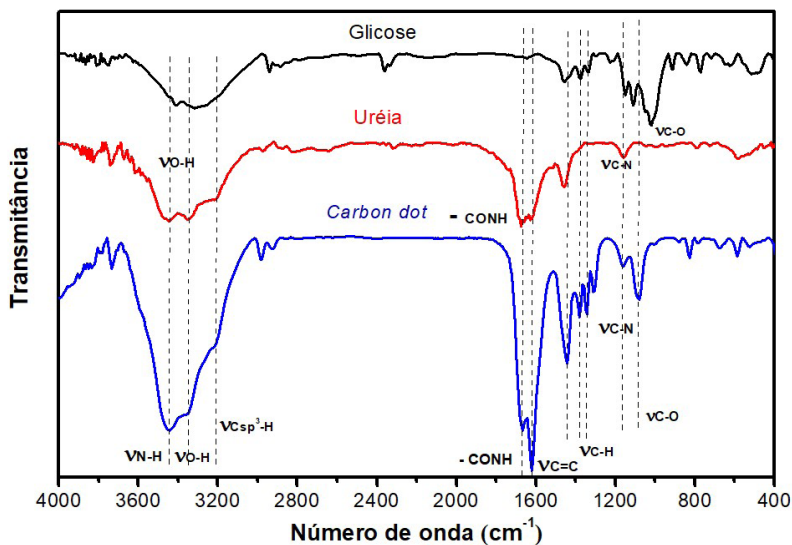



Figura 2: Espectros vibracionais de FTIR do *carbon dot* e seus precursores em KBr.

O espectro de infravermelho referente ao CD apresenta vibrações nas regiões de 3050-3650 cm^{-1} e 3200-3600 cm^{-1}, que estão relacionadas aos estiramentos das ligações N-H de amida e O-H de álcool, respectivamente [20,24]. Há também uma banda na região de 2840–3000 cm^{-1} relacionada ao estiramento da ligação C-H de carbono sp^3 [1315]. Uma vibração estreita e forte pode ser observada em 1666 cm^{-1}, a qual corresponde ao grupamento CONH, referente à amida [13]. As vibrações em 1620 cm^{-1} e 1442 cm^{-1} podem ser atribuídas a vibração de estiramento C=C devido à formação de carbonos aromáticos durante a carbonização no processo de síntese [15-18]. A deformação da ligação C-H também é observada na região de 1380-1340 cm^{-1}, porém classificada como simétrica e no formato de dubleto, indicando a existência de carbono terciário molécula [1517]. Em 1180 cm^{-1}, há a presença do estiramento da ligação C-N, a qual é relacionada ao grupamento amida [17]. Há uma vibração em 1080 cm^{-1}, representando a ligação C-O, que nesta região, caracteriza a presença de álcool primário [3]. As vibrações dessas ligações também aparecem tanto para a glicose, quanto para a ureia, como pode ser observado na Figura 3. Dessa forma, é possível afirmar que o CD sintetizado possui grupamentos aromáticos, hidroxílicos e nitrogenados.

3.2 Espectroscopia de Emissão e Absorção na Região do UV-Visível

O CD disperso em etanol, forma uma solução coloidal de cor alaranjada. Ao incidir luz ultravioleta de comprimento de onda 365 nm, a solução emitiu uma coloração azul claro, que foi facilmente perceptível a olho nu (Figura 3), sendo comparável com o que é reportado na literatura [19].

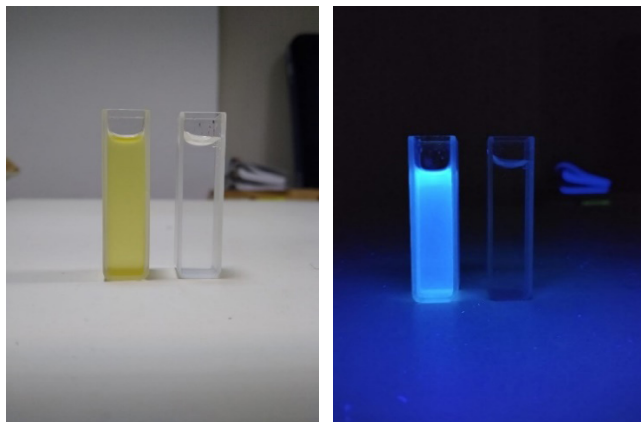



Figura 3: Imagens dos CD em etanol sob luz do dia (esquerda) e imagens de fotoluminescência (direita) sob radiação UV (365 nm).

As propriedades ópticas dos CD obtidos também foram estudadas para uma melhor compreensão do material formado. Para isso, foi utilizada a espectroscopia de Absorção (Figura 4) e a espectroscopia de Emissão (Figura 5).

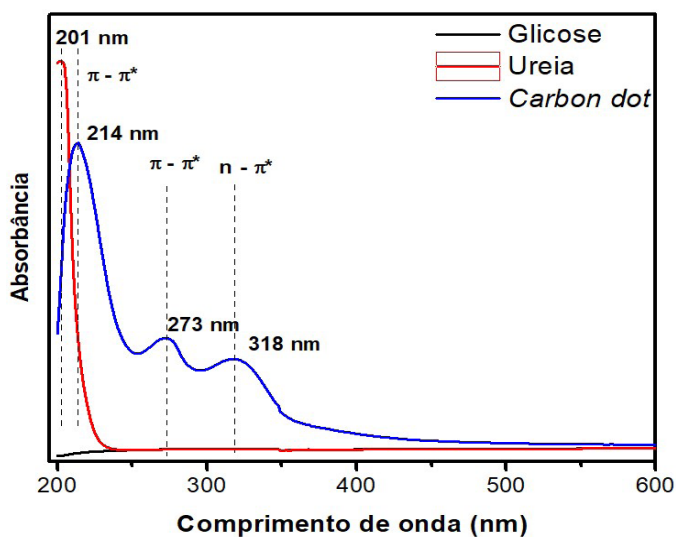



Figura 4: Espectros de absorção do CD em etanol e de seus precursores.

Conforme o espectro de absorção UV-Vis da Figura 4, o produto de síntese apresentou bandas de absorção bem definidas, uma em 214 nm referente às transições π-π^* de carbono *sp*^{2}, a qual também aparece no espectro da ureia. Outra transição em 273 nm, a qual é de natureza π-π^* intercamada de transferência de carga e em 318 nm,

originada da transição n-π* da ligação C=O da partícula de CD [14, 21-23].

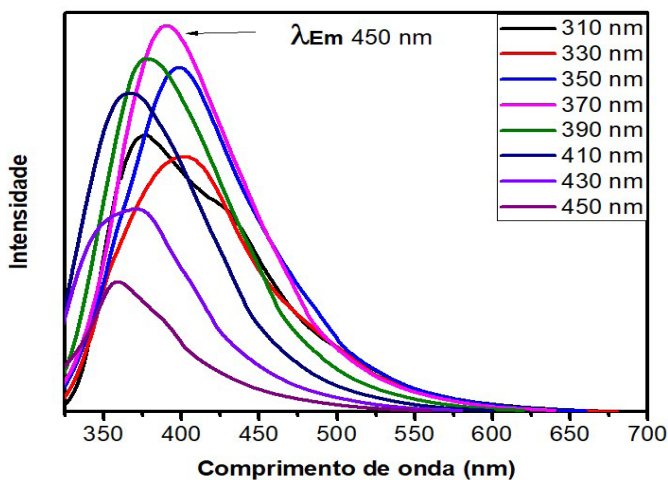



Figura 5: Espectros de emissão dos CD em etanol em diferentes comprimentos de onda de excitação.

De acordo com os espectros obtidos pela espectroscopia de emissão (Figura 5), a suspensão de CD tem seu máximo de emissão em 450 nm, quando utilizado o comprimento de excitação em 370 nm. Quando comparado com a literatura [12,20], é um valor de máximo aproximado com o que é esperado pela cor de emissão. O máximo de emissão varia de 359 nm a 402 nm quando o comprimento de excitação é variado de 310 nm a 450 nm. A posição da banda de emissão da fluorescência depende do comprimento de onda de excitação, devido à distribuição não homogênea dos CD, à composição química da superfície e aos defeitos de estado. Além disso, a dependência da posição da banda de emissão na excitação pode ser devida às características do mecanismo de fluorescência [14,21].

4 I CONCLUSÃO

Os resultados referentes ao levantamento bibliográfico de patentes demonstraram que não há materiais patenteados que apresentem características semelhantes ao produto obtido neste trabalho. As caracterizações realizadas apresentaram um material luminescente, que contém uma banda de absorção característica dos *carbon dots*, com propriedades aromáticas por apresentar a vibração de estiramento C=C e que também mantém características de seus precursores apresentando suas respectivas bandas de vibração. O material foi sintetizado de maneira fácil e de baixo custo, apresenta propriedades de um novo material da classe dos *carbon dots*. Devido os estudos realizados

e as comparações com trabalhos na literatura, esse CD concede diversas possibilidades de aplicações em sistemas reais, o que pode gerar novas tecnologias do âmbito estudado.

REFERÊNCIAS

[1] XU, X., RAY, R., GU, Y., PLOEHN, H. J., GEARHEART, L., RAKER, K., SCRIVENS, W. A. **Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, p. 12736–12737, 2004.

[2] HOLA, K., ZHANG, Y., WANG, Y., GIANNELIS, E. P., ZBORIL, R., ROGACH, A. L. **Carbon dots - Emerging light emitters for bioimaging, cancer therapy and optoelectronics.** *Nano Today*, v. 9, p. 590–603, 2014.

[3] ZHU, S., ZHANG, J., TANG, S., QIAO, C., WANG, L., WANG, H., LIU, X., LI, B., LI, Y., YU, W., WANG, X., SUN, H., YANG, B. **Surface chemistry routes to modulate the photoluminescence of graphene quantum dots: From fluorescence mechanism to up-conversion bioimaging applications.** *Advanced Functional Materials*, v. 22, p. 4732–4740, 2012.

[4] ZHU, S., MENG, Q., WANG, L., ZHANG, J., SONG, Y., JIN, H., ZHANG, K., SUN, H., WANG, H., YANG, B. **Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging.** *Angewandte Chemie - International Edition*, v. *52*, p. 3953–3957, 2013.

[5] EALIAS, A. M., SARAVANAKUMAR, M. P. **A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application.** *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, v. *263*, 2017.

[6] SHARMA, A., DAS, J. **Small molecules derived carbon dots: Synthesis and applications in sensing, catalysis, imaging, and biomedicine.** *Journal of Nanobiotechnology*, v. 17, p. 1–24, 2019.

[7] WANG, Y., HU, A. **Carbon quantum dots: Synthesis, properties and applications.** *Journal of Materials Chemistry C*, v. 2, p. 6921–6939, 2014.

[8] SHEN, L. M., LIU, J. **New development in carbon quantum dots technical applications.** *Talanta*, v. 156–157, p. 245–256, 2016.

[9] PUMERA, M., SÁNCHEZ, S., ICHINOSE, I., TANG, J. (2007). **Electrochemical nanobiosensors.** *Sensors and Actuators, B: Chemical*, v. 123, p. 1195–1205, 2007.

[10] LOWINSOHN, D., GAN, P., TSCHULIK, K., FOORD, J. S., COMPTON, R. G. **Nanocarbon Paste Electrodes.** *Electroanalysis*, v. 25, p. 2435–2444, 2013.

[11] LIU, M. L., CHEN, B. BIN, LI, C. M., HUANG, C. Z. **Carbon dots: Synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications.** *Green Chemistry*, v. 21, p. 449–471, 2019.

[12] BAKER, S. N., BAKER, G. A. **Luminescent carbon nanodots: Emergent nanolights.** *Angewandte Chemie - International Edition*, v. 49, p. 6726–6744, 2010.

[13] ZHU, J., BAI, X., BAI, J., PAN, G., ZHU, Y., ZHAI, Y., SHAO, H., CHEN, X., DONG, B., ZHANG, H., SONG, H. **Emitting color tunable carbon dots by adjusting solvent towards light-emitting devices.** *Nanotechnology*, v. 29, 2018.

[14] TOMSKAYA, A. E., EGOROVA, M. N., KAPITONOV, A. N., NIKOLAEV, D. V., POPOV, V. I., FEDOROV, A. L., SMAGULOVA, S. A. **Synthesis of Luminescent N-Doped Carbon Dots by Hydrothermal Treatment.** *Physica Status Solidi (B) Basic Research*, v. 255, p. 1–5, 2018.

[15] JAVED, M., SAQIB, A. N. S., ATA-UR-REHMAN, ALI, B., FAIZAN, M., ANANG, D. A., IQBAL, Z., ABBAS, S. M. **Carbon quantum dots from glucose oxidation as a highly competent anode material for lithium and sodium-ion batteries.** *Electrochimica Acta*, v. 297, p. 250–257, 2019.

[16] DONG, Y., PANG, H., YANG, H. BIN, GUO, C., SHAO, J., CHI, Y., LI, C. M., YU, T. **Carbon-Based Dots Co-doped with Nitrogen and Sulfur for High Quantum Yield and Excitation-Independent Emission.** *Angewandte Chemie*, v. 125, p. 7954–7958, 2013.

[17] ZHU, Y., JI, X., PAN, C., SUN, Q., SONG, W., FANG, L., CHEN, Q., BANKS, C. E. **A carbon quantum dot decorated RuO2 network: Outstanding supercapacitances under ultrafast charge and discharge.** *Energy and Environmental Science*, v. 6, p. 3665–3675, 2013.

[18] JIAN, X., YANG, H. MIN, LI, J. GANG, ZHANG, E. HUI, CAO, L. LE, LIANG, Z. HAI. **Flexible all-solid-state high-performance supercapacitor based on electrochemically synthesized carbon quantum dots/polypyrrole composite electrode.** *Electrochimica Acta*, v. 228, p. 483–493, 2017.

[19] ELGRISHI, N., ROUNTREE, K. J., MCCARTHY, B. D., ROUNTREE, E. S., EISENHART, T. T., DEMPSEY, J. L. **A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry.** *Journal of Chemical Education*, v. 95, p. 197–206, 2018.

[20] FENG, T., ZENG, Q., LU, S., YAN, X., LIU, J., TAO, S., YANG, M., YANG, B. **Color-Tunable Carbon Dots Possessing Solid-State Emission for Full-Color Light-Emitting Diodes Applications.** *ACS Photonics*, v. 5, p. 502–510, 2018.

[21] ZHU, S., SONG, Y., ZHAO, X., SHAO, J., ZHANG, J., YANG, B. (2015). **The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective.** *Nano Research*, v. 8, p. 355–381, 2015.

[22] RECKMEIER, C. J., SCHNEIDER, J., SUSHA, A. S., ROGACH, A. L. (2016). **Luminescent colloidal carbon dots: optical properties and effects of doping** [Invited]. *Optics Express*, v. 24(2), A312, 2016.

[23] HU, S., TIAN, R., DONG, Y., YANG, J., LIU, J., CHANG, Q. (2013). **Modulation and effects of surface groups on photoluminescence and photocatalytic activity of carbon dots.** *Nanoscale*, v. 5, 11665–11671, 2013.

CAPÍTULO 10

INFLUÊNCIA DOS HIDRÓXIDOS DE MAGNÉSIO E ALUMÍNIO NA ATIVAÇÃO MECANOQUÍMICA DO SISTEMA MGO-AL_2O_3-SIO_2

Data de aceite: 01/02/2021

Constança Amaro de Azevedo
IPqM, Instituto de Pesquisas da Marinha
Grupo de Tecnologia de Materiais
Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/4976867940270274

Francisco Manoel dos Santos Garrido
IQ/UFRJ, Instituto de Química
Departamento de Química Inorgânica, UFRJ
Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/5214082033930994

Jairo Moura de Melo
IPqM, Instituto de Pesquisas da Marinha
Grupo de Tecnologia de Materiais
Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/7852468406462664

Marta Eloísa Medeiros
IQ/UFRJ, Instituto de Química
Departamento de Química Inorgânica, UFRJ
Rio de Janeiro – RJ
http://lattes.cnpq.br/5269536079972055

RESUMO: Em estudos anteriores sobre ativação mecanoquímica do sistema MgO-Al_2O_3-SiO_2 em um moinho de bolas de baixa energia e com velocidade constante de 100 rpm, observou-se que a presença de hidroxilas na superfície do precursor de Sílica (HF_{254} tipo 60 Merck) e a introdução de água ao meio de moagem, resultou na formação do hidróxido de magnésio ($Mg(OH)_2$) no meio reacional, o que levou à formação de uma maior quantidade de α-cordierita (α-$Mg_2Al_4Si_5O_{18}$) em posterior tratamento térmico a 1.250ºC [1-3]. Continuando essa investigação, neste trabalho, foram utilizados três grupos diferentes de precursores de Mg e Al, os quais foram ativados mecanoquimicamente. O precursor de Si foi mantido o mesmo em todas as moagens.

Grupo I: MgO + $Al(OH)_3$

Grupo II: $Mg(OH)_2$ + Al_2O_3

Grupo III: $Mg(OH)_2$ + $Al(OH)_3$

Outro objetivo deste trabalho foi o de investigar a influência do tipo de elemento de moagem no processo de ativação mecanoquímica. Para tanto, foram realizados experimentos utilizando dois diferentes tipos de elementos de moagem. No primeiro conjunto de experimentos foram utilizados cilindros (1 cm de comprimento x 1 cm de diâmetro) de zircônia estabilizada (ZrO_2/Y_2O_3). No segundo conjunto de experimentos, foram utilizadas microesferas (2 mm de diâmetro) de zircônia estabilizada (ZrO_2/Y_2O_3). Para os dois conjuntos de experimentos, foram utilizados os mesmos grupos de reagentes precursores descritos anteriormente.

PALAVRAS-CHAVE: Ativação mecanoquímica, a-cordierita, meio aquoso.

INFLUENCE OF MAGNESIUM AND ALUMINIUM HYDROXIDES ON THE MECHANOCHEMICAL ACTIVATION OF MGO-AL_2O_3-SIO_2 SYSTEM

ABSTRACT: In previous studies on mechanochemical activation of the MgO-Al_2O_3-SiO_2 system, in a low energy ball mill with a constant speed of 100 rpm, it was observed that the presence of hydroxyls on the surface of the silica precursor (HF_{254} type 60 Merck) and

the introduction of water to the grinding medium resulted in the formation of magnesium hydroxide ($Mg(OH)_2$) in the reaction medium, which led to the formation of a greater amount of α-cordierite (α-$Mg_2Al_4Si_5O_{18}$) in a subsequent heat treatment at 1,250ºC [1-3]. Continuing this investigation, in this work, three diferent groups of Mg and Al precursors were used, wich were mechanically actived. The precursor of Si was kept the same in all mills.

I Group: $MgO + Al(OH)_3$

II Group: $Mg(OH)_2 + Al_2O_3$

III Group: $Mg(OH)_2 + Al(OH)_3$

Another objective of this work was to investigate the influence of the type of grinding element in the process of mechanochemical activation. For this purpose experiments were carried out using two different types of grinding elements, in the first set of experiments zirconia stabilized (ZrO_2/Y_2O_3) cyliders (1 cm long x 1 cm in diameter) were used, in the second set of experiments zirconia stabilized (ZrO_2/Y_2O_3) microspheres (2 mm in diameter) were used. The same groups of precursors described above were used for the two sets of experiments.

KEYWORDS: Mechanochemical activation, a-cordierite, aqueous medium.

1 I INTRODUÇÃO

No sistema ternário MgO-Al_2O_3-SiO_2, a α-cordierita (α-$Mg_2Al_4Si_5O_{18}$) é uma das fases mais importantes e considerada um dos materiais cerâmicos mais atrativos para a preparação de cerâmicas avançadas [1-6].

A rota mais comum para a obtenção desse material é a reação no estado sólido, porém em temperaturas maiores que 1.300ºC [5-8] próximas do seu ponto de fusão, o que dificulta a sua obtenção.

A ativação mecanoquímica na área de materiais é uma técnica de tratamento dos precursores de um sistema reacional, onde a moagem em regime de impacto-atrito é utilizada [1-4]. Além da cominuição, há a formação de defeitos cristalinos. A transferência de energia para o material sólido depende do número de choques dos elementos de moagem com a mistura de precursores. Está ligada, então, à velocidade do moinho, à forma geométrica e tamanho do elemento de moagem, ao tempo de moagem e à relação massa de sólidos/massa dos elementos de moagem [1-6,9,10].

A introdução desta etapa de ativação mecanoquímica, no processo de obtenção do material cerâmico, possibilita a formação de compostos intermediários ao produto final, durante a moagem, sendo que, a formação desses compostos está relacionada aos compostos precursores presentes na mistura reacional inicial [1-3].

Esses fatores, ligados à etapa da moagem, tornam possível a diminuição da temperatura do tratamento térmico posterior para a obtenção do produto final.

No caso da α-cordierita (α-$Mg_2Al_4Si_5O_{18}$), trabalhos anteriores apontam para a redução da temperatura dessa fase, tornando possível sua obtenção em temperaturas em torno de 1.250ºC [1-3]. O objetivo deste trabalho é o de avaliar a influência de diferentes precursores de magnésio e alumínio no processo de formação das fases intermediárias, assim como,

verificar o efeito do elemento de moagem no processo de ativação mecanoquímica.

2 I MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Precursores

Misturas dos precursores de Mg, Al e Si, em quantidades estequiométricas em relação à α-cordierita (α-$Mg_2Al_4Si_5O_{18}$), foram utilizadas neste estudo. Os reagentes foram utilizados como o retirado do frasco e suas purezas foram levadas em conta nos cálculos.

a. Como precursor de Silício, foi utilizada a sílica-gel HF_{254} tipo 60 (MERCK);

b. Como precursores do Magnésio, foram utilizados o óxido de magnésio (MgO) da MERCK e o hidróxido de magnésio ($Mg(OH)_2$) da SIGMA-ALDRICH;

c. Como precursores do Alumínio, foram utilizados o óxido de alumínio (Al_2O_3) da MERCK e o hidróxido de alumínio ($Al(OH)_3$) da SIGMA-ALDRICH.

2.2 Condições de moagem

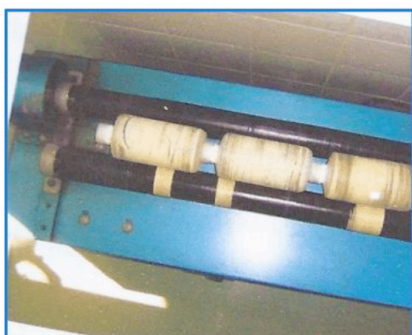
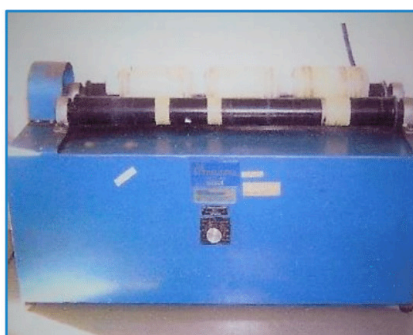
Com base em estudos anteriores, todas as moagens dos diferentes grupos de precursores foram realizadas por 72 h em água destilada e deionizada. A relação massa da mistura de reagentes/massa de elementos de moagem (M/C) utilizada foi igual a 1/100. Na figura 1, apresentamos o moinho usado neste estudo.

A

B

Figura 1. Moinho de bolas de baixa energia usado no estudo – U.S.Stoneware. A) vista de cima e B) vista de frente.

No primeiro conjunto de experimentos (fase I), foram usados como elementos de moagem os cilindros de zircônia. No segundo conjunto de experimentos (fase II), foram utilizadas microesferas de zircônia como elementos de moagem. Nos dois conjuntos de

experimentos se fez o uso do mesmo tempo de moagem (72 h) e do mesmo fator M/C (1/100).

2.3 Análise do material sólido obtido após a ativacão mecanoquímica

Os pós obtidos na ativação mecanoquímica, após filtragem e secagem a 120ºC ao ar [4] foram analisados por:

a. Difração de raios X no difratômetro Shimadzu DRX 6000. As condições de operação do equipamento foram as seguintes: radiação CuKα, 40 Kv, 30 mA, 2θ de 5 a 80º,

b. Espectros de absorção no infravermelho foram obtidos num espectrômetro Nicolet IS10, na região de 400 - 4.000 cm^{-1}, resolução de 4 cm^{-1}, usando-se a técnica da pastilha de KBr.

c. Análise térmica no equipamento Shimadzu DTG-60H com varredura da temperatura ambiente até 1.400ºC, vazão de N_2 igual a 50 mL/min e duas diferentes taxas de aquecimento – 10ºC/min ou 30ºC/min.

2.4 Compostos formados

a) Fase I:

Na fase I, os elementos de moagem utilizados foram os cilindros de zircônia estabilizada com ítria (ZrO_2/Y_2O_3). A tabela 1 resume os compostos cristalinos presentes nas amostras após ativação mecanoquímica e detectados na análise por difração de raio X. Na figura 2, apresentamos os difratogramas das amostras Aq16, Bq16 e Cq16.

SISTEMA	GRUPO de PRECURSORES de Mg e Al	PRECURSORES	AMOSTRAS	COMPOSTOS
MgO-Al_2O_3-SiO_2	I	MgO, $Al(OH)_3$	Aq16	enstantita, $Mg_2Al(OH)_7$
	II	$Mg(OH)_2$, Al_2O_3	Bq16	α-Al_2O_3, clinoenstatita
	III	$Mg(OH)_2$, $Al(OH)_3$	Cq16	clinoenstatita, enstatita

Tabela 1 – Compostos formados na ativação mecanoquímica, fase I.

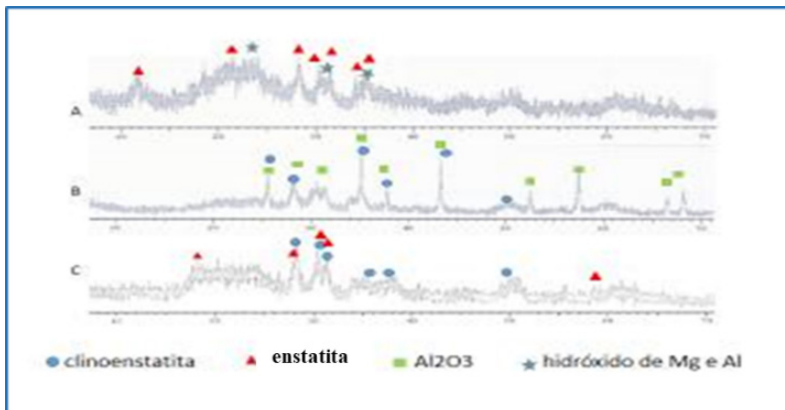



Figura 2 – Difratogramas das amostras mecanoquimicamente ativadas na fase I por 72h (M/C = 1/100) e secas ao ar a 120ºC, a) Aq16, b) Bq16 e c) Cq16.

As fases cristalinas enstatita (sistema cristalino ortorrômbico) e a clinoenstatita (sistema cristalino monoclínico) são isomorfos de fórmula química $MgSiO_3$. A formação destas fases indica que a ativação mecanoquímica promove a reação entre o precursor de silício e os diferentes tipos de precursores do magnésio utilizados, em todos os experimentos que utilizaram como elemento de moagem os cilindros de zircônia estabilizada com ítria.

b) Fase II:

Na fase II, os cilindros de zircônia foram substituídos por microesferas de zircônia estabilizada (ZrO_2/Y_2O_3) com 2 mm de diâmetro. Na tabela 2, estão resumidos os compostos cristalinos presentes nas amostras após ativação mecanoquímica, para este conjunto de experimentos, os quais foram detectados na análise por difração de raios X. Para comparação, os resultados obtidos no conjunto de experimentos da fase I também são apresentados.

SISTEMA	GRUPO de PRECURSORES de Mg e Al	PRECURSORES	FASE	AMOSTRAS	COMPOSTOS
$MgO-Al_2O_3-SiO_2$	I	MgO, $Al(OH)_3$	I	Aq16	enstatita, $Mg_2Al(OH)_7$
			II	Aq16M	material amorfo
	II	$Mg(OH)_2$, Al_2O_3	I	Bq16	α-Al_2O_3, clinoenstatita
			II	Bq16M	α-Al_2O_3
	III	$Mg(OH)_2$, $Al(OH)_3$	I	Cq16	clinoenstatita, enstatita
			II	Cq16M	$Mg_2Al(OH)_7$, $Mg_4Al_{12}(OH)_{14}$.3H2O

Tabela 2 – Compostos formados na ativação mecanoquímica, fases I e II.

Como o mencionado anteriormente, a enstatita e a clinoenstatita são polimorfos ($MgSiO_3$). Estas fases se formam a partir de uma reação do precursor de magnésio com a sílica, durante a moagem.

Com a utilização do hidróxido de alumínio ($Al(OH)_3$), que apresenta dureza menor que a do óxido de alumínio (Al_2O_3), observa-se que o precursor de alumínio também é ativado, formando novas fases que são resultado da reação com o precursor de magnésio e que foram identificadas como hidróxidos mistos de Mg e Al [11,12].

Para demonstrar a influência que a substituição dos elementos de moagem desempenha na ativação mecanoquímica, foram realizadas análises térmicas (DTA) das amostras Aq16 e Aq16M (grupo I), as quais são apresentadas na figura 3. Pode-se notar, que os fenômenos exotérmicos assinalados sofrem uma diminuição da temperatura em que ocorrem, passando de 1.250ºC para 1.020ºC e de 1.325ºC para 1.210ºC, quando é feita a comparação das amostras Aq16 e Aq16M. De acordo com a literatura [6], estes eventos térmicos são atribuídos à cristalização da cordierita, indicando a formação das fases m-cordierita e da a-cordierita, respectivamente. Esta significativa diminuição da temperatura, desses dois eventos, é uma forte evidência da maior ativação mecanoquímica da amostra Aq16M.

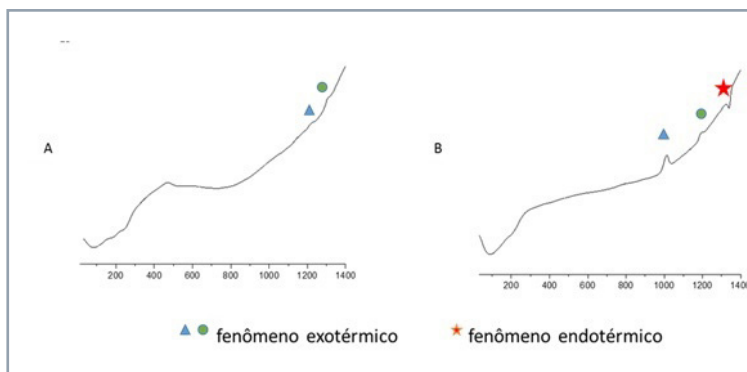



Figura 3 – DTA das amostras a) Aq16 e b) Aq16M com taxa de aquecimento de 30ºC/min.

Na amostra Aq16M, resultados preliminares de difração de raios X (DRX) e espectroscopia de absorção no infravermelho (IV), indicam a presença de hidróxido duplo de Mg e Al. Cabe ressaltar, que os espectros de IV indicam que as bandas relacionadas a vibrações das ligações Si-O (bandas na região entre 1.000 e 1.200 cm^{-1}) foram significativamente modificadas, o que confirma a intensa ativação mecanoquímica observada nesta amostra [1-3,7-10].

3 I CONCLUSÕES

Do que foi exposto, podemos concluir:

a. A α-alumina (a-Al_2O_3) com dureza semelhante a da zircônia, não foi ativada de forma significativa;

b. Quando foi utilizado o hidróxido de alumínio ($Al(OH)_3$), que apresenta dureza menor que a da zircônia, este sofre ativação, resultando na formação de hidróxidos mistos de magnésio (Mg) e alumínio (Al);

c. Tanto o óxido de magnésio (MgO) como o hidróxido de magnésio ($Mg(OH)_2$) dão origem a uma solução sólida do magnésio na sílica , formando silicatos de magnésio (enstatita e clinoenstatita) durante a ativação mecanoquímica;

d. A utilização das microesferas de zircônia estabilizada (ZrO_2/Y_2O_3) promove um maior grau de ativação mecanoquímica do sistema, o que resulta na amorfização dos compostos formados;

e. Tanto a presença dos hidróxidos quanto a utilização das microesferas, de zircônia estabilizada (ZrO_2/Y_2O_3), influenciam de forma significativa a ativação mecanoquímica do sistema $MgO-Al_2O_3-SiO_2$.

REFERÊNCIAS

[1] D'Azevedo, C.A.; Garrido, F.M.S.; Medeiros, M.E.. **The effect of mechanochemical activation on the reactivity in the $MgO-Al_2O_3-SiO_2$ system**. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.83(3), p.649-655, 2.006.

[2] De Azevedo, C.A.. **Estudo da ativação mecanoquímica do sistema MgO- $Al_2O_3-SiO_2$**. Tese Dsc., DQI/IQ/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2.007.

[3] D'Azevedo, C.A.; Garrido, F.M.S.; Medeiros, M.E.. **Efeito do precursor de SiO2 e da ativação mecanoquímica na reatividade do sistema $MgO-Al_2O_3-SiO_2$.** In Anais do V Encontro Técnico de Materiais e Química – IPqM, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2.008. DOI: 10.13140/22.1.1998.2404.

[4] Kong, L.B.; Xiao, Z.; Li, X.; Yu, S.; Que, W.; Liu, Y.; Zhang, T.;Zhou, K.; Zhang, H.. **Principles of mechanochemical activation**. In Functional Ceramics Through Mechanochemical Activation, IOP Publishing, 2019.

[5] Nath, S.K.; Kumar, S.; Kumar, R.. **Mechanochemical activation on cordierite synthesis through solid state method**. Bulletin of Marerials Science, v.37(6), p.1.221-1.226, 2.014.

[6] Obradovic', N.; Đorđevic', N.; Filipovic', S.; Markovic', S.; Kosanovic', D.; Mitric', M.; Pavlóvic', V.. **Reaction kinetics of mechanically actived cordierite-based ceramics studies via DTA**. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.124(2), p.667-673,2.016.

[7] Parlak, T.T.; Demirkiran, A.S.. **Zeolite usage as source of silica to produce cordierite in $MgO-Al_2O_3-SiO_2$ system**. Journal of Advanced Ceramics, v.7(4), p.370-379, 2.018.

[8] Redaoui, D.; Sahnoune, F.; Heraiz, M.; Saheb, N.. **Phase formation and crystallization kinetics in cordierite ceramics prepared from kaolinite and magnesia**. Ceramics International, v.44(4), p.3.649-3.657, 2.018.

[9] Silva, A.A.S.; Medeiros, M.E.; Sampaio, J.A.; Garrido, F.M.S.. **Verdete de Cedro do Abaeté como fonte de potássio: caracterização, tratamento térmico e reação com CaO**. Matéria (Rio de Janeiro), 17(3), 1061-1073, 2.012.

[10] Silva, F.A.N.G.; Barbato, C.N.; Santos, R.D.; Almeida, D.S.G.; Sampaio, J.A.;Medeiros, M.E.; Garrido, F.M.S.. **Mechanochemical activation of bauxite**. In: Suarez C.E. (eds) Light Metals 2012. Springer, 27-32, 2012.

[11] Santos, R.M.M.. **Materiais derivados de hidróxidos duplos lamelares: síntese, caracterização, e aplicação em adsorção e processos avançados de oxidação**. Dissertação Msc., IQ/UNESP, Araraquara, SP, Brasil, 2.016.

[12] Vieira, A.C.. **Síntese, caracterização e aplicação de hidróxidos duplos lamelares**. Dissertação Msc. em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, Brasil, 2.009.

CAPÍTULO 11

IMPLICAÇÕES E APLICAÇÕES DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 06/11/2020

Marluce Oliveira da Guarda Souza
Universidade do Estado da Bahia (UNEB)
Salvador – BA
http://lattes.cnpq.br/8446729745863575

Carine Pereira da Silva
Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Salvador – BA
http://lattes.cnpq.br/1502923863609183

Fernanda Sales Silva
Universidade do Estado da Bahia (UNEB)
Salvador – BA
http://lattes.cnpq.br/0627830395121865

RESUMO: O bagaço de cana-de-açúcar é um resíduo agroindustrial que possui diversas aplicações em variados campos da Ciência. Neste contexto, pode ser utilizado, por exemplo, na síntese de novos materiais baseados em óxidos metálicos e material carbonáceo, para emprego em processos de tratamento de efluentes. Deste modo, o objetivo do presente trabalho consiste no estudo e análise das diferentes aplicações do bagaço de cana nos processos de adsorção e fotocatálise heterogênea; visando a remoção de corantes altamente tóxicos e nocivos ao meio ambiente e aos seres humanos. Para tanto, o bagaço foi misturado mecanicamente a sais de ferro (nitrato e acetato de ferro) na proporção 1:1:1 (BC/NF-AF 1:1), e em solução aquosa a dióxido de titânio na proporção 1:2 (TiBC1:2), sendo as misturas submetidas ao aquecimento em mufla nas seguintes condições: rampa de aquecimento de 10ºC min^{-1}, fluxo de nitrogênio a uma vazão de 80 mL min^{-1}, nas temperaturas de 500ºC (BC/NF-AF 1:1 (500ºC)) e 450ºC (TiBC1:2450), por 2 horas. Os materiais resultantes do tratamento térmico foram aplicados na adsorção do corante azul de metileno (porcentagem de remoção de 90%) e na fotocatálise heterogênea do alaranjado de metila (porcentagem de descoloração do corante de 93%), mostrando-se altamente promissores para o emprego em ambos os processos.
PALAVRAS-CHAVE: Bagaço de cana, adsorção, fotocatálise heterogênea, corante.

IMPLICATIONS AND APPLICATIONS OF SUGARCANE BAGASSE

ABSTRACT: Sugarcane bagasse is an agro-industrial residue that has several applications in various fields of science. In this context, it can be used, for example, in the synthesis of new materials based on metallic oxides and carbonaceous material, for use in effluent treatment processes. In this way, the objective of the present work consists of the study and analysis of the different applications of sugarcane bagasse in the adsorption and heterogeneous photocatalysis processes; aimed at removing highly toxic dyes that are harmful to the environment and humans. Bagasse was mechanically mixed with iron salts (nitrate and iron acetate) in ratio 1:1:1 (BC/NF-AF 1:1), and in aqueous solution of titanium dioxide in ratio 1:2 (TiBC1:2), and the mixtures were heated in a muffle furnace under the following conditions: heating ramp of 10ºC min^{-1}, nitrogen flow at rate

of 80 mL min^{-1}, temperatures of 500ºC (BC/NF-AF 1:1 (500ºC)) and 450ºC (TiBC1:2450), for 2 hours. The materials resulting from the heat treatment were applied to the adsorption of the methylene blue dye (removal percentage of 90%) and in the heterogeneous photocatalysis of methyl orange (percentage of dye discoloration 93%), showing high promise for employment in both processes.
KEYWORDS: Sugarcane bagasse, adsorption, heterogeneous photocatalysis, dye.

1 I INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil, em Pernambuco, logo após o descobrimento do país. Em 1550, o Brasil já era o maior país produtor mundial de açúcar, e durante os séculos XVI e XVII, período conhecido como “ciclo do açúcar”, a zona da Mata Nordestina e o Recôncavo Baiano eram os principais polos desta atividade, seguido pelos estados do Maranhão, Rio de Janeiro e São Paulo (VIEIRA, LIMA e BRAGA, 2007).

Em adição, a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) é a maior cultura agrícola em todo o mundo, sendo cultivada em mais de 100 países, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, com produção mundial anual de aproximadamente 1,9 bilhões de toneladas (HOI e MARTINCIGH, 2013; CORDEIRO et al., 2017; BARROS et al., 2018).

O principal produto comercializado popularmente oriundo da cana, é o caldo, o qual é extraído após o caule ser prensado, e, logo após, descartado (Figura 1). Os principais resíduos sólidos gerados pela indústria da cana-de-açúcar são o bagaço e a palha, considerados materiais lignocelulósicos altamente abundantes. Após ser processada, a cana produz, em média, 14% de bagaço e 14% de palha em uma base de massa seca (CARVALHO et al., 2015).

Figura 1. Moagem da cana-de-açúcar em uma indústria de produção de aguardente localizado na cidade de Abaíra - BA.

Fonte: Produzido pelas autoras.

Destacando-se o bagaço de cana-de-açúcar, o mesmo apresenta baixa densidade (0,45 g cm^{-1} a 0,49 g cm^{-1}), 45 a 50% de umidade, 43 a 52% de fibras lignocelulósicas (hemicelulose, celulose e lignina), e 2 a 6% de sólidos solúveis (MOHOMANE, MOTAUNG e REVAPRASADU, 2017; LUZ et al., 2018). Este resíduo é caracterizado como um material heterogêneo higroscópico com uma diversidade de grupos funcionais em sua superfície, além de ser constituído de fibras e outros elementos estruturais como vasos, parênquimas e células epiteliais (SOCCOL et al., 2010; SCHEUFELE et al., 2015).

O bagaço de cana-de-açúcar pode ser empregado em distintas aplicações, tais como: produção de eletricidade, papel e celulose, alimentação animal, indústrias de concreto e utilizado como principal fonte energética requerida nas usinas de açúcar e destilarias de etanol; uma vez que é queimado como combustível em caldeiras que geram o vapor d'água utilizado na produção de açúcar e álcool e em processos de cogeração de energia (CORDEIRO, FILHO e FAIRBAIRN, 2009; ROCHA et al., 2015). Vale ressaltar que o etanol produzido a partir da fermentação ou hidrólise do bagaço é conhecido por etanol de segunda geração e vem ganhando numerosos estudos, sobretudo em países tropicais, a exemplo do Brasil (PITOL-FILHO, 2011).

Porém, grande parte deste resíduo não é adequadamente utilizado, e na maioria dos casos, descartado de forma inadequada (Figura 2). Um destes é a queima da cana durante a colheita, sendo uma fonte de muitos problemas ambientais, sendo alguns deles: aumento dos níveis de poluição atmosférica, aumento de pragas, emissões elevadas de N_2O e outros gases do efeito estufa, redução da vista próximos a rodovias e aeroportos devido a cortina de fumaça formada e até mesmo a queima de residências (CORDEIRO et al., 2017; MENANDRO et al., 2017; SOUSA et al., 2017).

Figura 2. Grande estoque de bagaço produzido a partir da moagem da cana em uma indústria de produção de aguardente localizado na cidade de Abaíra - BA.

Fonte: Produzido pelas autoras.

O uso do bagaço de cana para obtenção de novos materiais baseados em material carbonáceo e óxidos metálicos, a exemplo dos óxidos de ferro (Silva et al., 2018; Souza et al., 2019) e do dióxido de titânio (Liu et al., 2018) para aplicações na adsorção e fotocatálise heterogênea; destaca-se como uma das alternativas promissoras na minimização dos impactos ambientais, além de apresentar relevância tanto no âmbito científico quanto tecnológico (MARTÍN-LARA et al., 2010; PITOL-FILHO, 2011; ROCHA et al., 2015).

Neste contexto, o processo de adsorção é um importante método de purificação e separação, e bastante eficaz no tratamento de efluentes industriais contaminados por uma diversidade de poluentes nocivos aos ecossistemas aquáticos, sejam eles: orgânicos (a exemplo dos corantes têxteis) ou inorgânicos (os metais tóxicos) (NASCIMENTO et al., 2014).

A adsorção de determinada substância (adsorvato) em solução aquosa por um sólido (adsorvente) pode ser interpretada como resultado de uma reação reversível (adsorção-dessorção) que atinge uma condição de equilíbrio final entre a concentração do adsorvato nas duas fases (DELLE SITE, 2001). Tal equilíbrio, quando os ensaios adsortivos são realizados em condições isotérmicas, pode ser representado por meio de modelos matemáticos que descrevem o sistema em estudo, chamado *isotermas de adsorção*; sendo os mais comumente empregados na literatura os descritos por Langmuir e Freundlich (TAGLIAFERRO et al., 2011).

Outro método eficiente no tratamento de poluentes e substâncias tóxicas é a Fotocatálise Heterogênea. Este é caracterizado como um Processo Oxidativo Avançado (POA) e seu mecanismo é baseado na fotoabsorção de um sólido, denominado de semicondutor ou fotocatalisador. A partir da fotoabsorção, os elétrons são excitados e promovidos da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), a energia absorvida pelos fótons, h***v***, deve ser igual ou superior a energia de *band gap* (E_g) para que ocorra a formação do par elétron/lacuna (e^-/h^+). A partir da formação do par e^-/h^+, reações de oxidação e redução ocorrem, formando espécies altamente reativas (radicais $^{\bullet}OH$, H_2O_2, $O2^{\bullet -}$). Estas espécies são responsáveis por mineralizar um determinado poluente orgânico, a exemplo dos corantes têxteis, em CO_2 e H_2O (COLMENARES e LUQUE, 2014).

Por fim, entende-se que em um país que possui aproximadamente 2300 ha de cana-de-açúcar, é indispensável à procura por novas técnicas e processos que forneçam um destino sustentável aos resíduos provenientes desta plantação (BATTISTELLE, MARCILIO e LAHR, 2008). Sendo assim, o objetivo deste trabalho consiste no estudo e análise das aplicações do bagaço de cana-de-açúcar em processos de tratamentos de efluentes, destacando-se a adsorção e fotocatálise heterogênea; visando a remoção de corantes altamente tóxicos e nocivos ao meio ambiente e aos seres humanos.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado neste trabalho foi obtido a partir de um estabelecimento comercial de caldo de cana, localizado na cidade de Salvador - BA, sendo que a cana-de-açúcar foi cultivada no município de São Felipe - BA.

2.1 Pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar

Após a coleta do bagaço de cana *in natura*, o mesmo passou por um pré-tratamento, antes da sua aplicação. Para tanto, inicialmente as fibras do bagaço foram separadas e lavadas em água corrente para a remoção de impurezas mais grosseiras e superficiais, tais como: areia, folhas, entre outros. Em seguida, as mesmas foram imersas em banho de água destilada por 72 horas com troca da água a cada 12 horas (Figura 3(a)), seguido de lavagem com água ultrapura. Posteriormente, o bagaço foi seco em estufa (Solab, SL 102/480) a 60ºC até atingir massa constante, que perdurou por aproximadamente 72 horas. Por fim, esta biomassa foi triturada em um moinho de facas tipo Willey (Marconi, MA-680) e peneirada a 30 *mesh* (Figura 3(b)). Vale ressaltar que este procedimento foi adaptado dos trabalhos de Silva et al. (2008), Paulo (2014) e Silva et al. (2018).

Figura 3. **(a)** Fibras do bagaço de cana-de-açúcar imersas em banho de água destilada; **(b)** Bagaço de cana moído e peneirado a 30 *mesh*.

Fonte: Produzido pelas autoras.

2.2 Preparação da mistura dióxido de titânio/bagaço de cana-de-açúcar

Massas do dióxido de titânio comercial (2,0 g) e bagaço de cana-de- açúcar (4,0 g) foram adicionados em um erlenmeyer e misturados a 120 mL de água ultrapura. A mistura foi submetida a agitação em uma mesa agitadora (modelo 109 Nova Ética) a 120 rpm por 12 horas. O material foi filtrado a vácuo com auxílio de uma bomba a vácuo, levado a estufa (Solab SL100) para secagem a 70ºC por 72 horas. A mistura obtida foi denominada de

TiBC1:2 (dióxido de titânio/bagaço de cana na proporção 1:2).

2.2.1 Tratamento térmico da mistura dióxido de titânio/bagaço de cana na proporção 1:2

A partir da amostra TiBC1:2 preparou-se um novo material para aplicação no processo de Fotocatálise Heterogênea. A mistura foi transferida para uma cela de quartzo para calcinação em uma mufla convencional. As condições adotadas foram: rampa de aquecimento 10ºC min^{-1}, fluxo de nitrogênio a uma vazão de 80 mL min^{-1}, temperatura de 450ºC, tempo 2 horas; obtendo-se o sólido TiBC1:2450. O material final foi macerado e tamisado a 60 *mesh*, e empregado como fotocatalisador em testes fotocatalíticos de degradação do corante alaranjado de metila.

2.3 Preparação da mistura bagaço de cana/nitrato de ferro-acetato de ferro

O bagaço de cana (BC), e os sais acetato de ferro(II) (AF) e nitrato de ferro(III) nonahidratado (NF) foram misturados mecanicamente na proporção 1:1:1 (massa/massa), e transferidos para celas de quartzo para posterior calcinação em uma mufla convencional.

2.3.1 Tratamento térmico da mistura bagaço de cana/nitrato de ferro-acetato de ferro na proporção 1:1:1

A mistura resultante foi tratada termicamente nas seguintes condições: rampa de aquecimento de 10ºC min^{-1}; atmosfera de nitrogênio com fluxo de 80 mL min^{-1}; temperatura de aquecimento 500ºC; tempo de 2 horas. O material final obtido após a calcinação foi peneirado a 80 *mesh*, denominado BC/NF-AF 1:1 (500ºC) e posteriormente empregado como adsorvente para a remoção do corante azul de metileno em meio aquoso.

2.4 Testes fotocatalíticos

Os testes foram processados em um fotoreator fabricado artesanalmente. Inicialmente, foram realizados testes de fotólise, adicionando-se 350 mL de solução do corante alaranjado de metila com concentração inicial de 50 mg L^{-1} (pH~5,7) em um reator encamisado com paredes de circulação de água conectado a um banho termostático (T~15ºC) para resfriamento e manutenção da temperatura dentro do sistema em até 30ºC. A solução foi irradiada por uma lâmpada a vapor de mercúrio (125 W) e alíquotas foram coletadas em intervalos de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 minutos de reação e analisadas em um espectrofotômetro UV-VIS (marca Kasuaki) em comprimento de onda de 460 nm. Os valores de pH para cada alíquota foram obtidos fazendo-se leituras em um pHmetro. Posteriormente, foram realizados testes fotocatalíticos nas mesmas condições da fotólise. O diferencial consistiu na adição de 200 mg do fotocatalisador sintetizado (TiBC1:2450). Deste modo, o sistema foi mantido sob agitação no escuro para que se atingisse o equilíbrio de adsorção/dessorção por 30 minutos. Após esse período, a lâmpada foi ligada, sendo

recolhidas amostras nos intervalos de tempo de 10 a 90 minutos, centrifugadas por 10 minutos e analisadas em um espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda de 460 nm.

2.5 Testes de adsorção

Para obtenção das isotermas de adsorção, 100 mg do adsorvente preparado (BC/NF-AF 1:1 (500ºC)) foi adicionado em 100 mL da solução do corante azul de metileno, nas seguintes faixas de concentração: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; e 6,0 mg L^{-1}. Os sistemas resultantes foram mantidos em agitação (120 rpm) por um período de 60 minutos, e logo após, centrifugados por 15 minutos. Por fim, o sobrenadante foi analisado por espectrofotometria UV-Vis (equipamento Biospectro, modelo SP–22); para determinar a concentração remanescente do corante azul de metileno (C_e) no comprimento de onda de 664 nm. Os modelos empregados para estudo da interação entre o adsorvente e adsorvato e comparação com os resultados experimentais obtidos, foram os modelos de isotermas de adsorção não-lineares de Langmuir e Freundlich.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Adsorção

Analisando a isoterma de adsorção obtida (Figura 4), é possível observar que os dados experimentais para adsorção do azul de metileno, em meio aquoso, utilizando o material BC/NF-AF 1:1 (500°C) como adsorvente, ajustou-se melhor ao modelo não-linear de Langmuir.

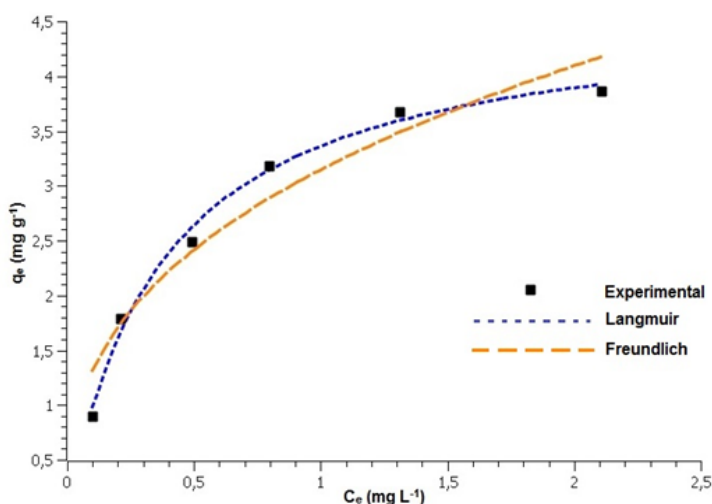



Figura 4. Isoterma de adsorção do azul de metileno para o adsorvente BC/NF-AF 1:1 (500°C).

No entanto, para explicação da maior capacidade de adsorção (q_e) do adsorvato (corante azul de metileno) por unidade de massa do adsorvente (BC/NF-AF 1:1 (500°C)), é necessário fazer uma análise das propriedades e características do material sintetizado. Para a amostra em estudo, a fase de óxido de ferro formada foi a maghemita (γ-Fe_2O_3) ou magnetita (Fe_3O_4), ou até mesmo uma mistura entre as fases, conforme observado nos resultados de Difração de raios X (DRX). A porcentagem de remoção do azul de metileno em meio aquoso empregando este material como adsorvente foi de aproximadamente 90%. De acordo com a literatura, a elevada adsorção do corante azul de metileno pode ser explicada pela forte interação entre os íons de Fe^{2+} e Fe^{3+} presentes na magnetita dentro e na superfície das amostras com os pares de elétrons da estrutura do corante (TIRELI et al., 2015).

3.2 Fotocatálise Heterogênea

Pode-se avaliar o bom desempenho fotocatalítico do semicondutor TiBC1:2450 a partir da Figura 5, observando-se uma expressiva porcentagem de descoloração do corante alaranjado de metila (93%), quando comparado a fotólise (44%), realizado sem a adição do fotocatalisador em estudo.

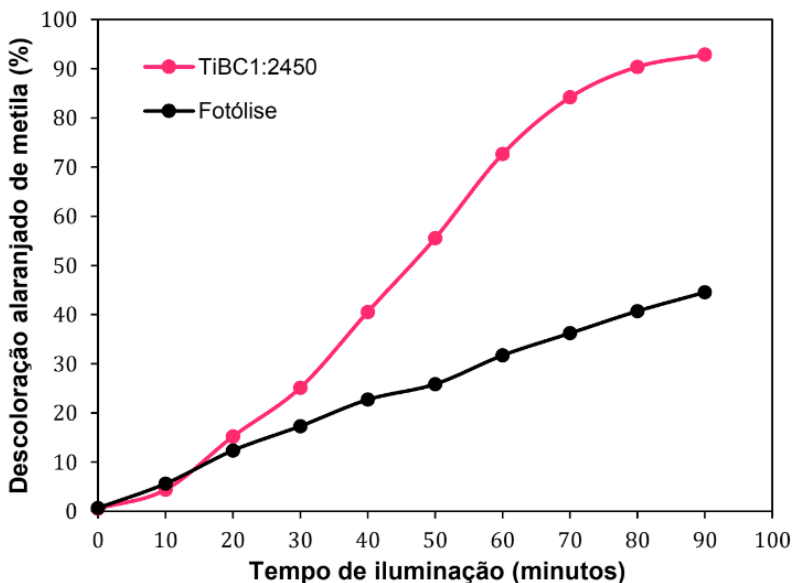



Figura 5. Porcentagem de descoloração do alaranjado de metila em função do tempo de iluminação empregando o fotocatalisador TiBC1:2450 no meio reacional.

Este resultado pode ser atribuído a alguns fatores, como por exemplo, a área superficial da amostra (95 $m^2\ g^{-1}$), determinada a partir da fisissorção empregando o modelo

matemático Brunauer-Emmett-Teller (BET). Uma área superficial significativa, conduz a uma elevação das taxas de reação devido ao favorecimento de interação entre os reagentes e os sítios ativos no sólido. Essa interação é permitida através dos processos difusionais e de adsorção, que ocorrem quando as moléculas do contaminante difundem-se do meio fluido para a superfície do fotocatalisador, e, posteriormente, para dentro dos poros onde ocorrerá adsorção do mesmo sobre a superfície sólida, e em seguida a reação de degradação do poluente (SCHMAL, 2011; COLMENARES, LISOWSKI E LOMOL, 2013). Uma área superficial favorável também facilita a absorção de fótons e a promoção de elétrons da banda de valência para a banda de condução formando o par e^-/h^+. Os pares fotogerados além de promoverem uma possível degradação do corante alaranjado de metila através de reações de oxidação e redução, podem oxidar moléculas de água formando radicais oxidativos, também responsáveis por degradar indiretamente o contaminante (DONG et al., 2012).

O efeito catalítico do fotocatalisador utilizado no processo de degradação de contaminantes orgânicos pode ser analisado utilizando o modelo cinético de Langmuir-Hinshewood (L-H), que relaciona à razão de degradação, neste caso do alaranjado de metila, à concentração do contaminante no meio aquoso (ROCHA et al., 2014). O valor determinado da constante de velocidade foi de $31,2 \times 10^{-3}$, evidenciando uma descoloração do alaranjado de metila cineticamente favorável ao adotar o fotocatalisador TiBC1:2450 no meio reacional.

4 | CONCLUSÃO

Após o pré-tratamento do bagaço de cana e a sua combinação com óxidos metálicos, foi possível sintetizar um novo material adsorvente (BC/NF-AF 1:1 (500ºC)) e fotocatalisador (TiBC1:2450) com propriedades adequadas para o emprego nos processos de adsorção e fotocatálise heterogênea, visando a remoção de corante em meio aquoso. Deste modo, obteve-se resultados promissores, visto que a porcentagem de remoção do azul de metileno ao empregar o adsorvente BC/NF-AF 1:1 (500ºC) foi de aproximadamente 90%, e o percentual de descoloração aplicando o fotocatalisador TiBC1:2450 para degradação do alaranjado de metila foi 93%. Então, conclui-se que é possível transformar o bagaço de cana-de-açúcar, matéria-prima altamente abundante, em produtos de maior valor agregado, reduzindo assim os impactos causados pela queima e descarte inadequado deste resíduo agroindustrial.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada (PGQA) da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPEQ) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) pela infraestrutura

concedida; a Capes e a Fapesb pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

BARROS, J. A. S; et al. Chromatographic characterization of bio-oils from faz pyrolysis of sugar cane residues (straw and bagasse) from four genotypes of the *Saccharum* complex. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 30 –36, 2018.

BATTISTELLE, R. A. G.; MARCILIO, C.; & LAHR, F. A. R. Emprego do bagaço da cana-de-açúcar (Saccharum Officinarum) e das folhas caulinares do bambu da espécie DendrocalamusGgiganteus na produção de chapas de partículas. **Minerva**, v. 5, n. 3, p. 297-305, 2008.

CARVALHO, D. M.; et al. Assessment of chemical transformations in eucalyptus, sugarcane bagasse and straw during hydrothermal, dilute acid, and alkaline pretreatments. **Industrial Crops and Products**, v. 73, p. 118–126, 2015.

COLMENARES, J. C.; LISOWSKI, P.; LOMOL, D. A novel biomass-based support (starbon) for TiO2 hybrid photocatalysts: a versatile green tool for water purification. **Royal Society of Chemistry**, v. 3, p. 20186-20192, 2013. Errata em: RSC Advances, v. 3, p. 20187, 2013.

COLMENARES, J. C.; LUQUE, R. Heterogeneous photocatalytic nanomaterials: prospects and challanges in selective transformations of biomass-derived compounds. **Royal Society of Chemistry**, v. 43, p. 765-778, 2014.

CORDEIRO, G. C.; et al. Study on the pozzolanic activity of sugar cane straw ash produced using different pretreatments. **Química Nova**, v. 40, n. 3, p. 264-269, 2017.

CORDEIRO, G. C; FILHO, R. D. T.; FAIRBAIRN, E. de M. R. Caracterização de cinza do bagaço de cana-de-açúcar para emprego como pozolana em materiais cimentícios. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 82-86, 2009.

DELLE SITE, A. Factors Affecting Sorption of Organic Compounds in Natural Sorbent/Water Systems and Sorption Coefficients for Selected Pollutants. A Review. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 30, n. 1, p. 187-439, 2001.

DONG, S.; ZHANG, J.; GAO, L.; et al. Preparation pf spherical activated carbono-supported and Er3+:YAlO3-doped TiO2 photocatalyst for methyl orange degradation under visible light. **Transactions of Nonferrous Metals Society of China**, v. 22, p.2477-2483, 2012.

HOI, L. W. S.; MARTINCIGH, B. S. Sugar cane plant fibers: separation and caracterization. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 1– 12, 2013.

LIU, B.; LIU, S.; MENG, L.Y.; et al. Microwave-hydrothermal symthesis and photocatalytic properties of biomass charcoal/TiO2 nanocomposites. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 22, p. 509-518, 2018.

LUZ, F.S.; CANDIDO, V. S.; SILVA, A. C. R.; et al. Thermal behavior of polyestes composites reinforced with green sugarcane bagasse fiber. **JOM: the Journal of the Minerals, Metals & Materials Society**, 2018.

MARTÍN – LARA, M. Á.; et. al. Modification of the sorptive characteristics of sugarcane bagasse for removing lead from aqueous solutions. **Desalination**, v. 256 p. 58–63, 2010.

MENANDRO, L. M. S.; et al. Comprehensive assessment of sugarcane straw: implications for biomass and bioenergy production. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 11, p. 488-504, 2017.

MOHOMANE, S. M.; MOTAUNG, T. E.; REVAPRASADU, N. Thermal degradation kinetics of sugarcane bagasse and soft wood celulose. **Materials,** v. 10, p.2-12, 2017.

NASCIMENTO, R. F.; et al. **Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.

PAULO, G. M. M. **Remoção de íons metálicos a partir de meios aquosos mediante o uso de bagaço de cana e material argiloso (bentonita).** Dissertação de Mestrado. Salvador-BA. Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade do Estado da Bahia, 2014.

PITOL-FILHO, L. Aplicações sustentáveis de biomassa: novas perspectivas. **Revista da Unifebe (Online)**, v. 9, p. 100-109, jan./jun. 2011.

ROCHA, G. J. de M; et al. Influence of mixed sugarcane bagasse samples evaluated by elemental and physical–chemical composition. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 52–58, 2015.

ROCHA, V. M. S.; TELES, L. R.; SOUZA, M. O. G. S.; et al. Effect copper on the photocatalytic activity of semiconductor based titanium dioxide (anatase) and hematite (α-Fe2O3). **Materials Science and Engineering B**, v. 185, p.13-20, 2014.

SCHEUFELE, F. B.; et al. Assessment of Drying Temperature of Sugarcane Bagasse on Sorption of Reactive Blue 5G Dye. **Fibers and Polymers**, v. 16, n. 8, p. 16461656, 2015.

SCHMAL, M. Cinética e reatores: Aplicação à Engenharia Química. 2. Ed. Rio de Janeiro: **Synergia**, 2011.

SILVA, C.P.; SANTOS, A. V.; SOUZA, M. O. G.; et al. Synthesis of composites and study of the termal behavior of sugarcane bagasse/ iron nitrate mixtures in diferente proportions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, p.611-620, 2018.

SILVA, F. L.; MARQUES, M. G.; ROMANIELO, L. Adsorção de hidrocarbonetos em soluções aquosas utilizando bagaço de cana. **In: 4ª Semana do Servidor e 5ª Semana Acadêmica**. Universidade Federal de Uberlância – UFU, 2008

SOCCOL, C. R.; et al. Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4820–4825, 2010.

SOUSA JR, J. G. de A.; et al. Sugar cane straw left in the field during harvest: decomposition dynamics and composition changes. **Soil Research**, 2017, DOI: http://www.publish.csiro.au/sr/SR16310.

SOUZA, M. O. G.; REBOUÇAS, L. M.; CASTRO, L. M. F. Characterization and thermal decomposition study of mango residue biomass (Mangifera indica L.). **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 139, p. 1811-1816, 2019.

TAGLIAFERRO, G. V.; et al. Adsorção de chumbo, cádmio e prata em óxido de nióbio (v) hidratado preparado pelo método da precipitação em solução homogênea. **Química Nova,** v. 34, n. 1, p. 101-105, 2011.

TIRELI, A. A.; et al. Fenton-like processes and adsorption using iron oxide-pillared clay with magnetic properties for organic compound mitigation. **Environmnetal Science and Pollution Research**, v. 22, p. 870–881, 2015.

VIEIRA, M. C. A.; LIMA, J. F.; BRAGA, N. M. **Setor Sucroalcooleiro Brasileiro: Evolução e Perspectivas**. Departamento de Agroindústria (DEAGRO) da área industrial do BNDES, 2007.

CAPÍTULO 12

ICE TEMPLATE ADAPTADA: A PRODUÇÃO DE POROS ATRAVÉS DO CONGELAMENTO

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão:06/11/2020

Natália Reigota César
Universidade Federal de São Carlos
Sorocaba – SP
http://lattes.cnpq.br/3615702921384821

Jeniffer Silveira Gonçalves
Universidade Federal de São Carlos
Sorocaba – SP
http://lattes.cnpq.br/0471333214958640

Aparecido Junior de Menezes
Departamento de Física, Química e Matemática
Universidade Federal de São Carlos
Sorocaba – SP
http://lattes.cnpq.br/0484426340349483

Walter Ruggeri Waldman
Departamento de Física, Química e Matemática
Universidade Federal de São Carlos
Sorocaba – SP
http://lattes.cnpq.br/0616238673458322

RESUMO: Os biopolímeros, como a pectina, têm a capacidade de formar géis que são usualmente utilizados como espessantes em gelatina na insústria alimentícia, por exemplo. Os géis porosos de pectina são geralmente homogêneos, formando uma malha rica em água. As diferentes aplicações acerca de estruturas porosas, fazem com que esse seja um material interessante de ser desenvolvido de maneira simples, com baixo curto e eficiente. Compreender como esses poros são formados e conhecer técnicas de produção de materiais porosos, permite aplicar essas estruturas a favor de possíveis utilizações em diferentes áreas da ciência. *Ice template*, ou *freeze casting*, é a técnica utilizada na produção de materiais com poros através do congelamento, o método convencional utiliza equipamentos pouco acessíveis para a produção dessas estruturas. Esse trabalho tem como objetivo desenvolver uma adaptação da técnica de *ice template,* utilizando um congelador comum sem sistema *frost-free,* para realizar o congelamento e formação de estruturas porosas.
PALAVRAS-CHAVE: *Ice Template* adaptado, *freezer* doméstico, estruturas porosas.

ADAPTED ICE TEMPLATE: THE PRODUCTION OF PORES THROUGH FREEZING

ABSTRACT: Byopolymers, such as pectin, have the ability to form gels which allows their use as jelly thickeners in food industries, for example. Porous pectin gels are generally homogeneous, forming a water-rich mesh. The different applications about porous structures, make this an interesting material to be developed in a simple way, with short and efficient bass. Understanding how these pores are formed and knowing techniques for producing porous materials, allows applying these structures in favor of possible uses in different areas of science. Ice template, or freeze casting, is the technique used in the production of materials with pores by freezing, the conventional method uses equipment that is not very accessible for the production of these structures. This work aims to

develop an adaptation of the ice template technique, using a common freezer without a frost-free system, to freeze and form porous hydrogels.

KEYWORDS: Adapted ice template; common freezer; porous structures.

INTRODUÇÃO

O uso de estruturas porosas no cotidiano da vida humana não é um fato raro, esse tipo de estrutura se apresenta em diferentes materiais e para as mais variadas aplicações, sendo desde usos muito simples, como uma esponja doméstica ou até mesmo usos mais complexos, como estudos de crescimento celular[1] e remoção de contaminantes em sistemas aquáticos[2].

A importância em relação a utilização de estrutras porosas, se dá por conta da verstilidade proveniene das características desses materiais, por exemplo, os tipos de poros que uma estrutura apresenta modulam as funções para quais o material pode ser utilizado[3]. Essas características são determinadas de acordo com a direção, tamanho e conexão entre os poros de uma estrutura, podendo ser unidirecionais, poros seguindo uma única direção, ou multidirecionais, onde os poros não seguem um padrão de formação[4].

Entre as diversas técnicas que podem ser utilizadas na produção de estruturas porosas, o *ice template, ou freeze-casting,* utiliza o congelamento para este fim[5], e envolve não apenas a influência dos fatores fisicos a que um material é submetido, como também das propriedades químicas envolvidas, tempo de congelamento, tamanho de partículas e viscosidade das substâncias submetidas ao processo de congelamento[6]. Sem mencionar ainda a química presente nas substâncias utilizadas, incluindo a quantidade de água e presença de sólidos solúveis[7].

O método de *ice template*, que utiliza os cristais de gelo para a produção de estruturas porosas, que tem foco principalmente em materiais cerâmicos, é um método simples e de baixo impacto ambiental, que permite produzir estruturas porosas únicas[8-9], como apresentado pelos trabalhos de Deville,[10] que podem ser uma referência sobre a técnica convencional.

Para elucidar como ocorre o desenvolvimentode das estruturas porosas por decorrência da formação de gelo a partir da água, usada na maioria das vezes como solvente nos processos de *ice template*[10], Ickes sugeriu que o processo de congelamento ocorre através da teoria da nucleação[11], onde foi observado que após o superesfriamento da água, no o início do congelamento é formado um embrião de gelo, com a capacidade de influencia sob outras moléculas, incentivando que as mesmas se solidifiquem, congelando todo o sistema.

Para que haja essa difusão da molécula de água para fase sólida, ocorre a quebra das ligações de hidrogênio das moléculas de água, gerando aumento da energia interna da água, provocando um processo exotérmico, aumentando por um período rápido, a

temperatura durante o congelamento[10]. Esse processo é determinado como calor latente, correspondendo a energia necessária para alternar a mudança de fase da água, de líquida à sólida[9-10]. A nucleação e a formação dos cristais de gelo proporcionam a formação de poros, mas as estruturas desenvolvidas podem ser diferentes[11-12]. Partículas dispersas na água durante a formação de gelo alteram a taxa de resfriamento da água, principalmente se forem muito pequenas, por esse motivo a temperatura durante o processo pode sofrer oscilações[13-14].

A formação de estruturas, partindo do princípio da técnica de *ice template*, utiliza etapas para formar os poros cerâmicos, que são quatro, até a formação da estrutura final (Figura 1); primeiro há o preparo da formulação que será congelada (a), no início do congelamento há formação dos cristais simultaneamente à precipitação do soluto pela menor disponibilidade de solvente (b). Ao fim do congelamento é feita a sublimação do solvente, geralmente por liofilização (c). Esta sublimação faz com que o gelo seja retirado, mas a forma dos cristais permanece, formando poros, e por fim a sinterização, somente para o caso de materiais cerâmicos, que aglutina as partículas do material para manter sua estrutura (d)[15], esta não é uma etapa necessária no uso de polímeros.

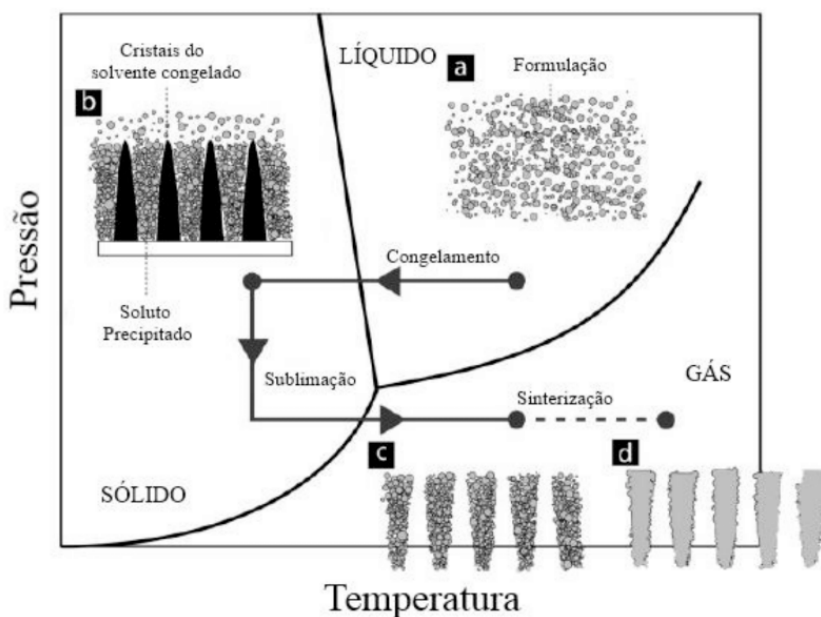



Figura 1. Esquema do processo de ice template, sendo: a) preparo da formulação cerâmica usada para a produção dos materiais; b) evolução dos cristais de gelo, e precipitação do soluto, com consequentemente aumento da concentração; c) sublimação do solvente, mantendo a estrutura exata das cerâmicas que haviam sido formados; d) sinterização para manutenção da estrutura formada. Fonte: Adaptado de Deville[15]

Este trabalho tem como objetivo desenvolver uma técnica adaptada de *ice template*, utilizando um congelador doméstico sem sistema *frost-free*. Trata-se de uma metodologia de baixo custo e fácil acesso que permite que quaisquer hidrogéis tornem-se porosos após a etapa de *freeze casting*.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

A produção dos géis foi feita utilizando a pectina denominada GENU® LM-102 AS-Z, fornecida pela CPKelco. Esta é extraída de cascas de frutas cítricas e, segundo dados do fornecedor, possui baixa metoxilação (abaixo de 50%), grau de esterificação de aproximadamente 30% e grau de amidação de aproximadamente 19%. A reticulação do gel foi feita com o uso de solução de cloreto de cálcio (CaCl2.2H2O) da marca Anidrol. A água mineral utilizada é da marca Crystal (fonte Mogi das Cruzes, pH 7,37 (25°C) e condutividade elétrica 159,6 µS/cm (25°C).

Seleção do material a ser utilizado como isolante

Para determinar o material que seria utilizado durante o condicionamento das amostras no congelador sem sistema *frost-free* (Eletrolux, DC 35 A), a fim de que houvesse um maior isolamento térmico possível durante o congelamento, foram feitos testes com caixa de polipropileno (PP) com dimensões de 14 x 14 x 4 cm^3 e com a caixa de isopor contendo caixa de papelão dentro; a caixa de papelão possuía área de 13,5 x 13,5 x 5 cm^3 (marca Cralplast) e a caixa de isopor com tamanho interno de 14 x 14 x 6,5 cm^3 e tamanho externo de 25 x 25 x 6,7 cm^3; todas as dimensões encontram-se na Figura 2.

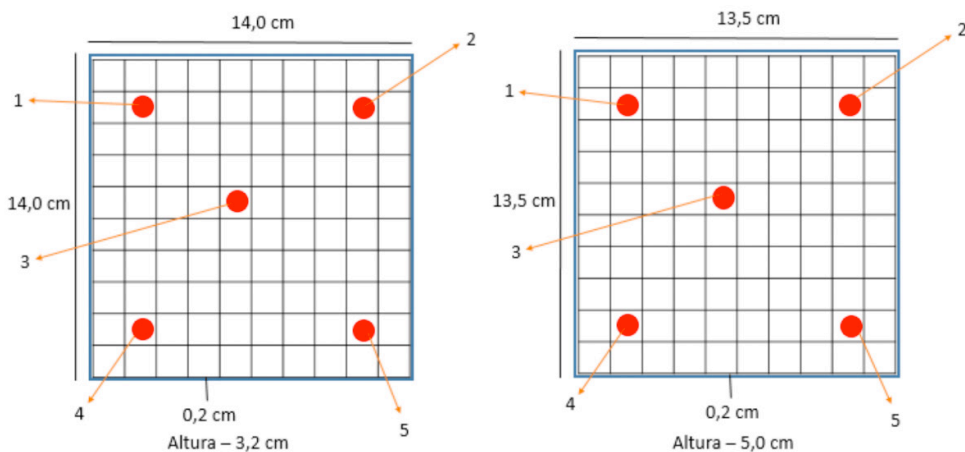
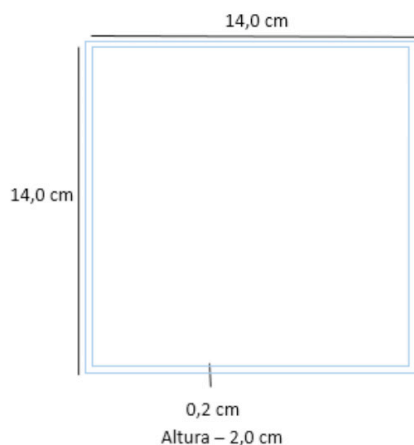
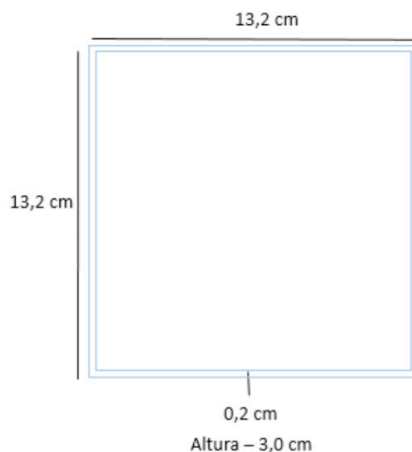
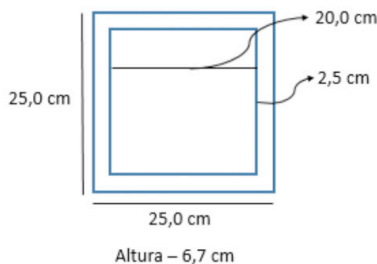
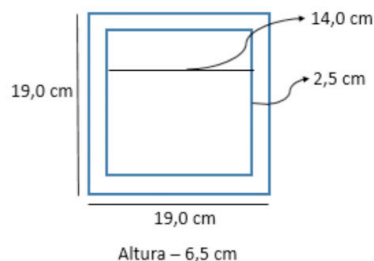



Figura 2. Dimensões das caixas. (A) Vista interna da parte debaixo da caixa de PP, (B) Vista interna da parte debaixo da caixa de papelão, (C) Vista interna da tampa da caixa de PP e (D) Vista interna da tampa da caixa de papelão. (E) Vista interna da tampa da caixa de isopor e (F) Vista interna da parte de baixo da caixa de isopor. Os pontos vermelhos com as setas nas imagens (A) e (B) indicam as localizações em que foram colocados os termostatos digitais para acompanhamento das temperaturas durante o experimento

Foram utilizados termostatos digitais em cinco lugares diferentes dentro das caixas, assim como dentro do *freezer*, a temperatura foi acompanhada a cada 3 minutos pelo período de 225 minutos. Este teste foi realizado sem interferência externa; ou seja, sem abertura do congelador durante o processo.

Variação da temperatura dentro da caixa isolante

Após selecionar o melhor material isolante, foram realizados testes para verificar possíveis variações de temperatura dentro da caixa isolante através da localização dos termostatos.

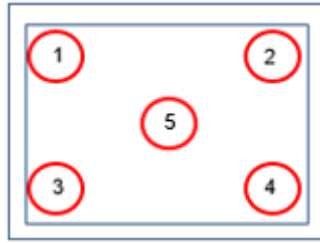



Figura 3. Posições em que foram colocados os termostatos digitais, dentro da caixa isolante

Este acompanhamento foi realizado de em intervalos de 3 minutos, por 222 minutos. A formulação utilizada foi a do gel contendo solução de pectina a 0,05 %, solução de $CaCl_2$ a 0,0020 mol L^{-1} e 1860 µL de água, a solução foi agitada manualmente e condicionadas em *eppendorfs* de 2 mL. Esta solução pré-gel é homogênea a temperatura ambiente com concentração abaixo da suficiente para a reticulação da pectina, não havendo a formação de estrutura de gel. Além das temperaturas internas, também houve o registro da temperatura interna do congelador.

Registro do tempo de congelamento das amostras dos géis no sistema de refrigeração sem *frost-free* - Validação da formação de gel pela técnica de adaptada de *ice template*

Foi realizado o acompanhamento do congelamento das amostras buscando determinar o tempo de formação das estruturas porosa, ou seja, a formação dos géis porosos a partir da técnica adaptada de *ice template*.

As temperaturas foram acompanhadas em intervalos de 3 minutos pelo período de 600 minutos; sendo regisrados os valores dos géis, da água e da temperatura interna do congelador. O acompanhamento foi realizado em triplicata.

Hidrogél de pectina poroso obtido a partir da técnica adaptada de *ice template*

A formulação utilizada foi a do gel contendo solução de pectina a 0,7 %, solução de $CaCl_2$ a 0,0245 mol L^{-1} e 1530 µL de água, a solução foi agitada manualmente e condicionada em *eppendorfs* de 2 mL por 24h dentro da caixa de papelão e isopor no congelador. Foram preparadas amostras em triplicata.

O processo de secagem utilizado foi o da liofilização, realizada no laboratório de biomateriais da Pontifícia Universidade Católica (PUC) – Sorocaba, em parceria com a Professora Eliana Duek. O liofilizador utilizado é do modelo K 105, marca LIOTOP; as amostras foram condicionadas a temperatura de -100ºC por 48h.

Caracterização morfológica do gel poroso

As análises dos géis foram realizadas no microscópio Quanta, modelo 650 FEG

e no microscópio *Inspect* modelo F50, no Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) localizados no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) em Campinas, SP. As amostras foram incialmente colocadas em porta-amostras de alumínio e recobertas com uma fina camada de material condutor (ouro).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seleção do material a ser utilizado como isolante

Foram acompanhadas as temperaturas internas das caixas que foram utilizadas durante o experimento, a fim de selecionar o material (PP ou isopor e caixa de papelão) que fosse mais isolante possível, assim as amostras teriam um congelamento lento, permitindo a formação do hidrogél poroso. Na Figura 3 encontra-se os gráficos com as temperaturas para cada material.

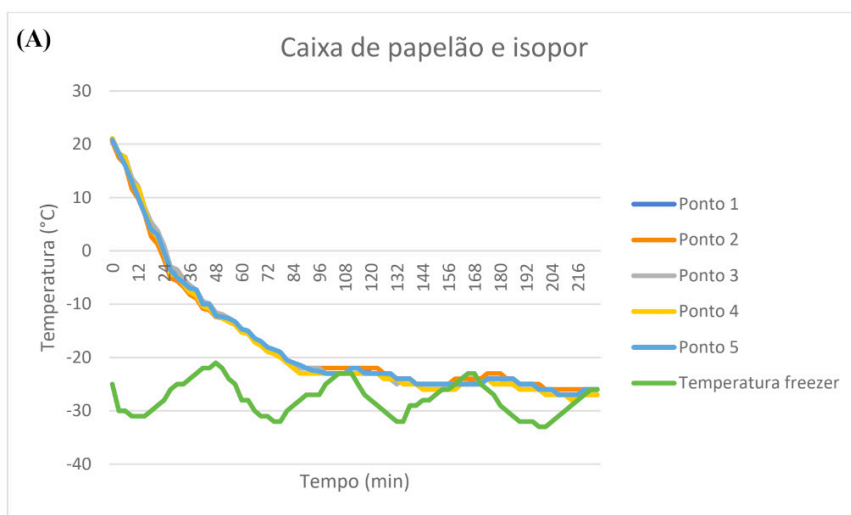
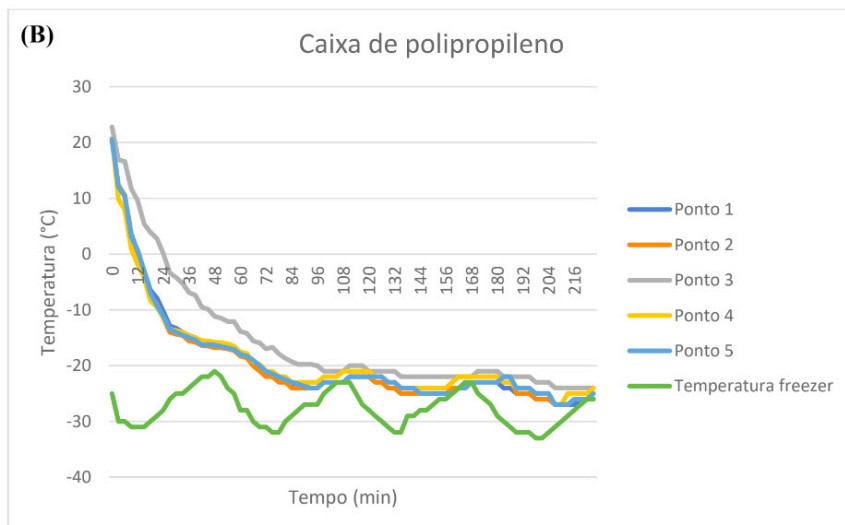



Figura 4. Gráficos de acompanhamento da temperatura das caixas de do isopor com caixa de papelão (A) e PP (B)

Através dos dados obtidos durante os experimentos, foi possível observar que o sistema adaptado utilizando como isolante o isopor contendo a caixa de papelão demonstrou menor alterações térmicas, apresentando menores oscilações entre temperaturas máximas e mínimas do que as observadas na caixa de PP, que mostrou muita influência em relação a variedade da temperatura do *freezer*. A partir dessa analise foi determinado que o isolamento realizado com papelão e isopor se mostrou mais efetivo. Além do experimento de isolamento térmico, o custo do material é menor, o que também favorese seu uso, já que o PP é um material mais caro.

Variação da temperatura dentro da caixa isolante

Foram realizados testes para a verificação de possíveis variações internas de temperatura em posições diferentes da caixa de papelão. Este teste foi realizado em duplicata e os gráficos estão apresentados na Figura 5 (A) e (B).

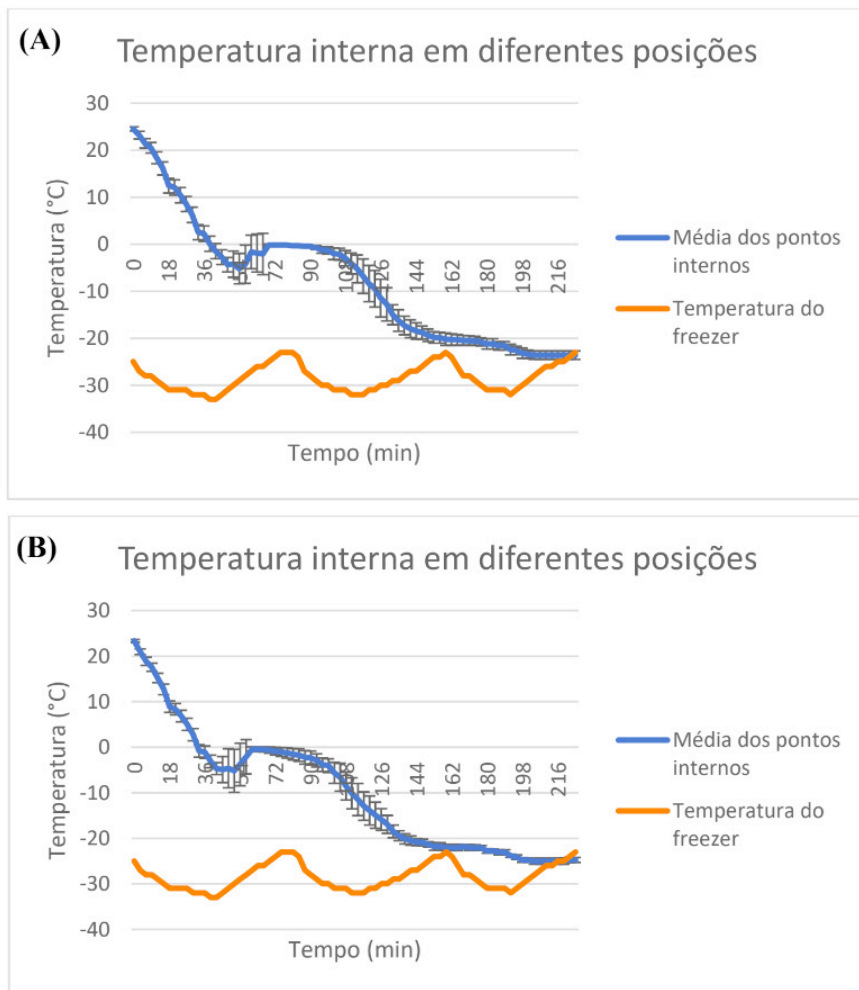



Figura 5. Acompanhamento, em diferentes posições, das temperaturas internas da caixa (A) e (B)

Após analíse a comparação dos dados apresentados na Figura 5 (A) e (B), observa-se que não há alterações significativas de temperatura nas diferentes posições internas da caixa de papelão. Assim, acredita-se que todas as amostras estão sendo condicionadas sob a mesma temperatura de resfriamento ao longo de todo o experimento.

Registro do tempo de congelamento das amostras dos géis no sistema de refrigeração sem *frost-free* - Validação da formação de gel pela técnica adaptada de *ice template*

Utilizando a metodologia de validação de formação do gel pela técnica adaptada de *ice template* foi possível observar em qual o ponto do experimento ocorreu o total congelamento das amostras e a respectiva formação do gel de pectina, perfurado pelos

cristais de água congelada. Na Figura 6 é possível visualizar o congelamento ao longo do tempo juntamente com algumas imagens de formação das estruturas porosas.

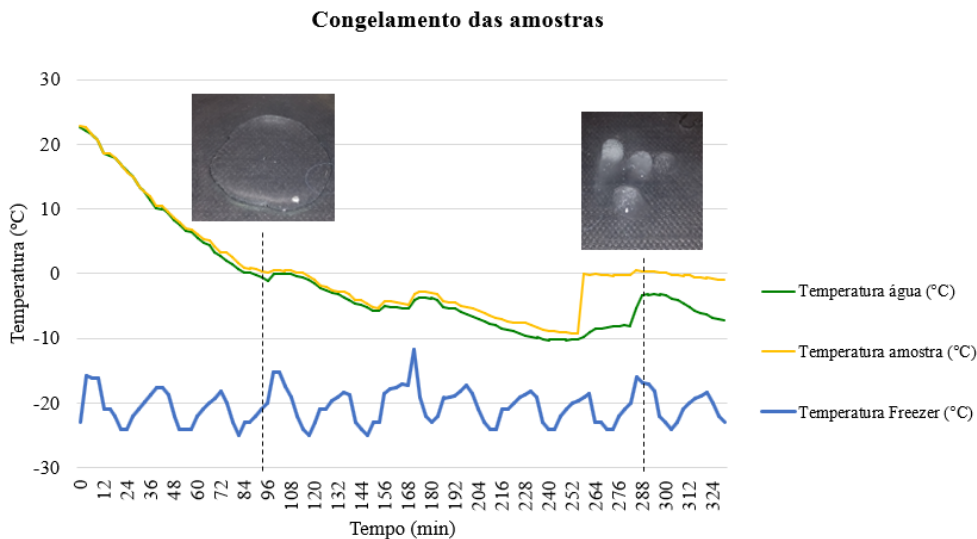



Figura 6. Acompanhamento da formação do gel poroso, congelamento da água e temperatura do freezer nos tempos de 0 a 324 minutos

Após o periodo de 100 min de processo de congelamento, não houve reticulação do gel de pectina, ainda que a temperatura já estivesse em 0 ºC, um resultado esperado, visto que a formação inicial de gelo trata-se de um evento exotérmico, que não ocorre quando a temperatura atinge exatos 0 ºC [8-10].

Uma nova análise foi realizada aos 153 minutos do processo, onde a temperatura atingiu aproximadamente -5 °C, ainda neste momento nenhuma das amostras estavam congeladas ou houve reticulação do gel.

Após 282 minutos de processo, foi possível observar o início de congelamento, com formação de poucos cristais nas paredes dos recipientes, porém conferindo um rápido descongelamento, logo após pouco tempo em exposição à temperatura ambiente. Nesse intervalo houve o início da formação do gel de pectina, que podem ser observadas na Figura 7.

O processo de não haver a formação de um gel robusto, ainda que haja o início do congelamento da amostra, ocorre por conta de que a concenração do soluto, que aumenta de acordo com a menor disponilbilidade de solvente[7], ainda não promove uma reticulação forte o suficiente para a formação de uma estrutura estável.

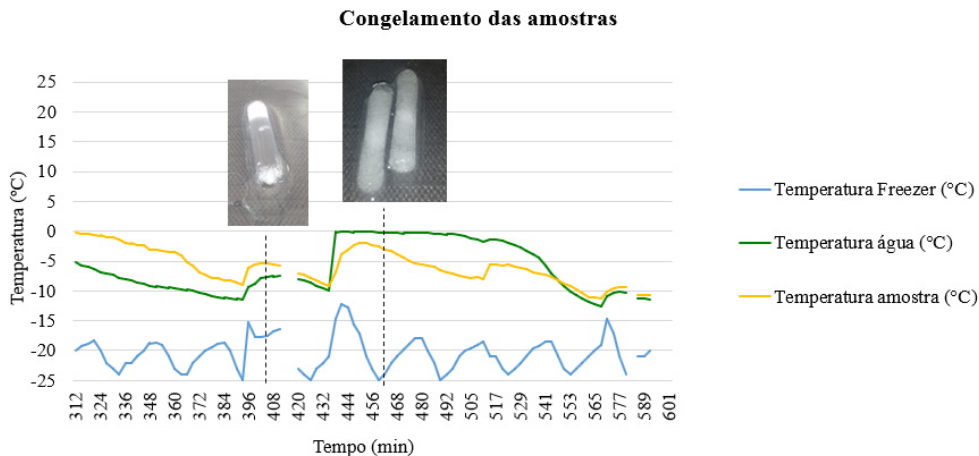



Figura 7. Acompanhamento da formação do gel poroso, congelamento da água e temperatura do freezer nos tempos de 312 a 600 minutos

Nos tempos de 400, 450 e 500 minutos os géis foram formados, assim como seus poros, através dos cristais de gelo formados no processo, podendo ser observado na estrutura do gel formado na Figura 7, em 435 minutos, indicado pela seta da cor preta, assim como nos intervalos posteriores, indicando a estabilidade da reticulação da pectina com formação da estrutura porosa.

A partir dos ensaios realizados no estudo da técnica adaptada, é possível observar que são necessárias aproximadamente 7 horas para a formação total do gel, este após formado apresenta curva de temperatura similar ao comportamento da curva da água, sendo que ambos apresentam oscilações de temperatura próximas as oscilações do *freezer.*

A formação do gel apó o congelamento das amostras comprova a possibilidade do desenvolvimento deestrutura porosa através da utilização de um congelador comum sem sistema *frost free*, permitindo a validação de uma técnica de produção, proveniente de um método eficiente, que requer menor necessidade da disponibilidade de recursos de alto custo, adaptando a técnica de *ice template*.

Hidrogél de pectina poroso obtido a partir da técnica adaptada de *ice template*

Foram preparadas amostras utilizando a técnica proposta em seguida foram secas por liofilização. Na Figura 8 encontram-se amostra úmida (A) e liofilizada (B).

Figura 8. Imagem da estrutura porosa após descongelamento (A) e após liofilização (B)

Todas as amostras secas por liofilização mantiveram a mesma estrutura do gel pós descongelamento (Figura 8 (B)). Resultado semelhante também foi observado em gel de alginato e cálcio obtido pela autora Gonçalves[7].

Caracterização morfológica do gel poroso

A amostra do hidrogel foi caracterizada morfologicamente pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Na imagem 9 (A) estão apresentadas as microscopias do hidrogel poroso úmido, pós descongelamento e (B) pós liofilização.

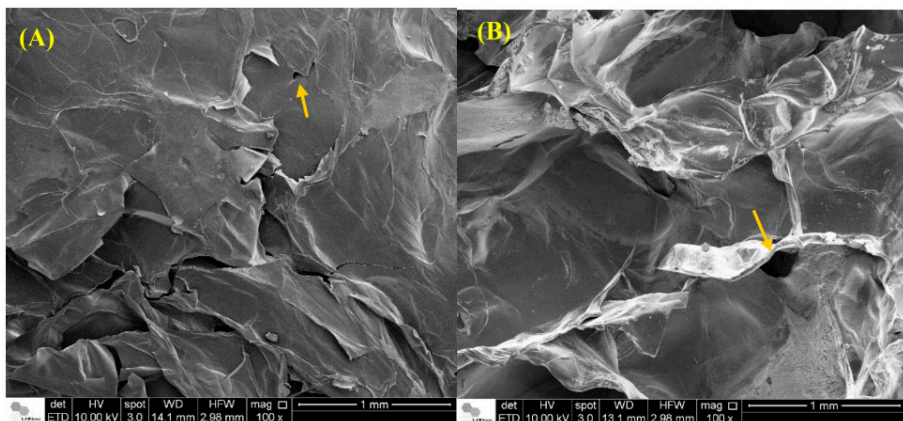



Figura 9. Microscopias eletrônicas de varredura do gel após descongelamento (A) e após liofilização (B)

A partir das imagens de MEV, observa-se que as estruturas dos géis formados são unidirecionais, foram obtidas estruturas porosas após o *ice template* (Figura 9 (A), seta amarela) e esta estrutura manteve-se após a etapa de secagem (Figura 9 (B), seta amarela). Choi e colaboradores[16] estudaram *beads* de quitosana para possível aplicação

na área médica e também observaram que suas estruturas se mantinham similares quando liofilizadas pós descongelamento.

Com a caracterização morfológica dos hidrogéis porosos formados é possível afirmar que técnica de *ice template* adaptada proposta é aplicada de forma satisfatória, possibilitando formação de estruturas porosos organizadas unidirecionalmente com baixo custo, pois obteve-se materiais similares aos obtidos com *cold finger*, com investimentos inferiores em relação aos equipamentos; além de ser uma técnica de mais fácil acesso.

CONCLUSÃO

Foi possível desenvolver uma técnica adaptada de *ice template*, substituindo o equipamento convencional utilizado (*cold finger*) pelo uso de um congelador sem sistema *frost-free*, um sistema de baixo custo e fácil acesso. Foi possível ainda selecionar o melhor material isolante para o uso neste sistema (caixa de isopor e papelão), estes materiais possibilitaram um congelamento lento; o que resultou na formação de materiais porosos e unidirecionais. A temperatura interna dentro das caixas em diferentes posições também foram acompanhadas e mostraram não haver diferença significativa de temperatura em diferentes localizações internas; ou seja, as amostras foram submetidas as mesmas condições de congelamento independentes das posições. Com as imagens de MEV identificou-se poros nas estruturas após o descongelamento e secagem, comprovando o uso satisfatório da nova técnica proposta.

AGRADECIMENTO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

1. ISHIZAKI, K.; KOMARNENI, S.; NANKO, M. **Porous Materials:** Process technology and applications. Springer, 1998. 240 p. (Materials Technology Series). ISBN 978-1-4615-5811-8.

2. SILVA, L. L.; GALEMBECK, F. Morphology of latex and nanocomposite adsorbents prepared by freeze-casting. **Journal Of Materials Chemistry A**, [s.l.], v. 3, n. 14, p.7263-7272, 2015.

3. SADER, M. S.; FERREIRA, M.; DIAS, M. L. Preparação e caracterização de estruturas porosas de poli(3-hidroxibutirato). **Polímeros**, v. 16, n. 1, p. 12-18, 2006.

4. WHITE, M.; CONRAD, J.; ELLIS, S. N.; CHEN R.; Investigations of ice-structuring agents in ice-templated ceramics. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 100, n. 11, p. 5066-5074, 2017.

5. DEVILLE, S. Freeze-Casting of Porous Ceramics: A Review of Current Achievements and Issues. **Advanced Engineering Materials**, v. 10, n. 3, p.155-169, 2008.

6. LIU, Gang; BUTTON, Tim W. The effect of particle size in freeze casting of porous alumina–zirconia composite. **Ceramics International**, v. 39, n. 7, p.8507-8512, 2013.

7. Gonçalves, J. S. **Produção de géis porosos por congelamento.** 2018. 86 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2018.

8. BIGLIA, A.; COMBA, L.; FABRIZIO, E.; Gay, P.; AIMONINO, D. R. Case Studies in Food Freezing at Very Low Temperature. **Energy Procedia**, v. 101, p.305-312, 2016.

9. RAUT, U.; FAMÁ, M.; TEOLIS, B D.; BARAGIOLA, R. A. Characterization of porosity in vapor-deposited amorphous solid water from methane adsorption. **The Journal Of Chemical Physics**, v. 127, n. 20, p.1-6, 2007.

10. DEVILLE, S. Freeze-Casting of Porous Biomaterials: Structure, Properties and Opportunities. **Materials**, v. 3, n. 12, p.1913-1927, 2010.

11. ICKES, Luisa et al. Classical nucleation theory of homogeneous freezing of water: thermodynamic and kinetic parameters. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 8, p.5514-5537, 2015.

12. LIBBRECHT, Kenneth G. Physical Dynamics of Ice Crystal Growth. **Annual Review of Materials Research**, v. 47, n. 1, p.271-295, 2017.

13. MORITZ, Tassilo; RICHTER, Hans-jürgen. Ice-mould freeze casting of porous ceramic components. **Journal of The European Ceramic Society**, v. 27, n. 16, p.4595-4601, 2007.

14. YOON, B.; KOH, Y. H.; PARK, C. S.; KIM, H. E. Generation of Large Pore Channels for Bone Tissue Engineering Using Camphene-Based Freeze Casting. **Journal of American Ceramic Society**, v. 90, pp. 1744–1752, 2007.

15. DEVILLE, S. Ice-templating freeze casting: Beyond materials processing. **Journal of Materials Research**, v. 28, n. 17, p.2202-2219, 2013.

16. Choi, S.-W.; Zhang, Y.; Yeh, Y.-C.; Wooten, A. L.; Xia, Y.; Biodegradable porous beads and their potential apllications in regenerative medicine. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, p. 11442-11451, 2012.

CAPÍTULO 13

CARACTERIZAÇÃO DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO SULFATO DE ATAZANAVIR

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 06/11/2020

Emiliana Moraes de Carvalho
Farmanguinhos / Fiocruz
Rio de Janeiro – Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/9064134660744088

Erika Martins de Carvalho
Farmanguinhos / Fiocruz
Rio de Janeiro – Rio de Janeiro
http://lattes.cnpq.br/8577097067622866

RESUMO: Desenvolvido e comercializado pelo laboratório Bristol Myers Squibb (BMS), o Sulfato de Atazanavir (sATV), de nome comercial Reyataz, é um antirretroviral (ARV) de segunda geração pertencente à classe dos inibidores de protease. Indicado em combinação com outros agentes antirretrovirais para o tratamento da infecção por HIV-1, faz parte do coquetel distribuído gratuitamente pelo Departamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) Aids e Hepatites Virais, do Ministério da Saúde. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasileira (ANVISA) se tornou membro permanente do Conselho Internacional sobre Harmonização de Requisitos Técnicos em Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH) em 2016 e tem, desde então, a obrigatoriedade de se adequar às normas internacionais de qualidade para registro de medicamentos. Neste contexto, o controle de qualidade é de extrema importância e está presente desde o início da cadeia produtiva na indústria farmacêutica. Os insumos farmacêuticos, muitas vezes importados, representam o início de todo esse desenvolvimento e, por isso, estão sujeitos a um controle rigoroso. A caracterização dos insumos farmacêuticos ativos (IFA) é primordial para o desenvolvimento de formulações de qualidade devido às inúmeras informações que pode oferecer. Determinação de pureza e confirmação da identidade química, identificação do comportamento e estabilidade térmica e identificação de forma polimórfica são somente alguns exemplos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é ilustrar, por meio do sATV, a caracterização de um IFA por meio dos métodos térmicos (TGA), espectroscópicos (RMN, IV e DRX) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplado ao massas.

PALAVRAS-CHAVE: Sulfato de Atazanavir, caracterização, métodos analíticos.

CHARACTERIZATION OF THE ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT ATAZANAVIR SULFATE

ABSTRACT: Developed by the Bristol Myers Squibb (BMS) laboratory, Atazanavir Sulfate (sATV), marketed under the brand name Reyataz, is a second-generation antiretroviral (ARV) belonging to the class of protease inhibitors. The sATV is used in combination with other antiretrovirals agents for the treatment of HIV-1 infection. It is part of the cocktail distributed free of charge by the Department of Sexually Transmitted Diseases (STD), AIDS, and Viral Hepatitis of the Ministry of Health of Brazil. The national health surveillance agency of Brazil

(ANVISA) has become a permanent member of the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) in 2016 and since then has been obliged to comply with international quality standards for drug registration. In this context, quality control is essential and has been present since the beginning of the pharmaceutical industry's production chain. In general, active pharmaceutical ingredients (API) are imported from other countries, represent the beginning of all this development, and are subject to strict control. The characterization of active pharmaceutical ingredients (API) is essential for developing quality formulations due to the innumerable information. Determination of purity and confirmation of chemical identity, identification of behavior, and thermal stability and identification in a polymorphic form are just a few examples. The objective of this work is to illustrate, through the sATV, the characterization of an API through thermoanalytical (TG), spectroscopic and crystallographic techniques (NMR, IR, XRD) and high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with mass spectrometry.
KEYWORDS: Atazanavir Sulphate, characterization, analytical methods.

1 | INTRODUÇÃO

No início do processo de globalização, as indústrias farmacêuticas buscavam cada vez mais espaço nos mercados internacionais, porém encontravam barreiras devido à ausência de consenso regulatório entre os países. Neste cenário, foi criado o ICH. Pautado no princípio de promover uma harmonização regulatória a nível global, o intuito do ICH é garantir o acesso da população a medicamentos seguros, eficazes, de qualidade, em tempo reduzido, com custo de pesquisa e desenvolvimento inferiores (BRANCH, 2005; ICH, 2019).

A ANVISA, agência reguladora brasileira que desde 2016 é membro regular do ICH, assumiu desde então o compromisso de se adequar aos padrões de qualidade, segurança e eficácia a nível mundial para registro de medicamentos (ANVISA, 2020). Com a obrigatoriedade de se adequar às normas internacionais de qualidade, os produtos com registro concedido pela agência brasileira passam a atender ao mesmo padrão de qualidade dos principais mercados internacionais, tornando possível seu registro e comercialização em todo mundo.

Neste contexto, o controle da qualidade do medicamento ganha notabilidade. Segundo definição da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 301 da ANVISA, de 21 de agosto de 2019, legislação brasileira que dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação (BPF) de Medicamentos:

> O Controle de Qualidade é a parte das BPF referente à coleta de amostras, às especificações e à execução de testes, bem como à organização, à documentação e aos procedimentos de liberação que asseguram que os testes relevantes e necessários sejam executados, e que os materiais não sejam liberados para uso, ou que produtos não sejam liberados para comercialização ou distribuição, até que a sua qualidade tenha sido considerada satisfatória. (ANVISA, 2019).

No entanto, até o medicamento final chegar ao consumidor um longo caminho é percorrido na indústria farmacêutica, sendo todas as etapas críticas para garantia da qualidade do medicamento. A aquisição das matérias-primas é a etapa inicial de toda essa cadeia produtiva, por isso representam um ponto crítico de todo o processo e estão cada vez mais sujeitas a um controle rigoroso dos órgãos reguladores.

A importância do tema é evidenciada pelas recentes pautas de discussão da ANVISA, que em abril de 2020 publicou as novas diretrizes para registro de IFAs, as Resoluções – RDC Nº 359, 361 e 362/2020. Essas resoluções estão relacionadas ao novo marco regulatório de IFA no Brasil e reforçam ainda mais a importância dos insumos no Controle de Qualidade dos produtos farmacêuticos.

Neste contexto, a caracterização do IFA ganha importância devido à variedade de informações que a mesma pode oferecer, contribuindo assim para um desenvolvimento racional e de qualidade. Dentre as informações que podem ser extraídas da caracterização, temos a identificação da forma cristalina que possui impacto direto no desempenho de um medicamento, pois afeta características importantes, como a solubilidade e biodisponibilidade. O conhecimento da estabilidade térmica do ativo, identificação de solvatos, variações nas propriedades do estado sólido, confirmação da identidade química, determinação de grau de pureza e resíduos de síntese são algumas informações relevantes que dependem que uma caracterização de qualidade.

Para ilustrar o processo de caracterização de um IFA, será objeto desse estudo o sATV (Figura 1), um antirretroviral pertencente à classe dos inibidores de protease, utilizado em combinação com outros agentes antirretrovirais para o tratamento da infecção por HIV-1 e parte do coquetel distribuído gratuitamente pelo Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, do Ministério da Saúde (FIGUEIREDO; SCHRAMM; PEPE, 2014; SILVEIRA; CORRÊA; BARROSO, 2016).

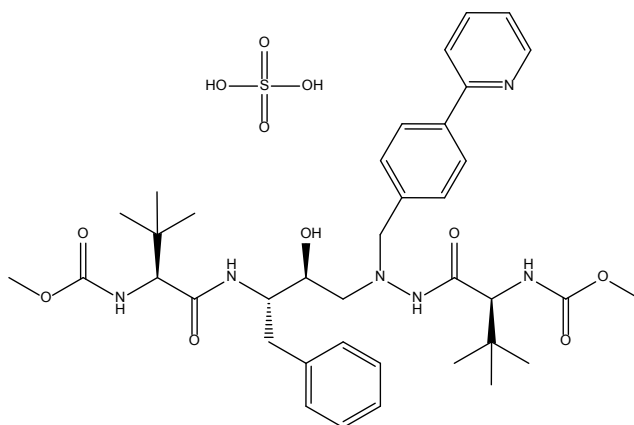



Figura 1: Estrutura molecular do Sulfato de Atazanavir

Fonte: Elaboração da autora (2020).

2 I MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de sATV usada, de lote 2K71626, da BMS, foi fornecida pelo *Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ*. A caracterização do sATV foi realizada por métodos térmicos, espectroscópicos, cristalinos e cromatográficos.

Para obtenção da curva de Termogravimetria (TGA), cerca de 2,5mg da amostra foram cuidadosamente pesadas em cadinho de platina. Os ensaios foram realizados em um analisador termogravimétrico TGA Q500 V20.13 Build 39, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de 60mL/min e razões de aquecimento de 10ºC/min, no intervalo de temperatura de 22 a 920ºC. O equipamento de TGA foi previamente calibrado com índio e alumínio metálicos.

A difração de raios X (DRX) da amostra foi realizada no Laboratório de Difração de Raios X da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em difratômetro de raios X da marca Rigaku, modelo Ultima IV (185mm), radiação CuKα, k=1,54188 Å, com voltagem de 40 kV e 20 mA.

A espectroscopia na região do infravermelho (IV) com transformada de Fourier foi realizada em um espectrômetro modelo Nicolet 6700-FTIR, na faixa de 4000-400 cm^{-1}e resolução de 4 cm^{-1} e 16 scans. As intensidades das bandas estão expressas em transmitância (T).

Os espectros de RMN de ^{1}H, e ^{13}C em solução foram obtidos em um espectrômetro Bruker Avance 500 (500 MHz para ^{1}H e 125 MHz para o ^{13}C) usando uma sonda broadband (BB) de 5 mm à 30,0 ±0,1ºC, e Metanol deuterado (MeOD) como solvente. Os valores dos deslocamentos químicos (δ) foram referidos em ppm, as constantes de acoplamento (*J*) expressas em Hertz (Hz) e as multiplicidades descritas como: simpleto (s), dupleto (d), quarteto (q), multipleto (m), duplo dupleto (dd), duploduplodupleto (ddd), triplo dupleto (td). O espectro DEPT foi obtido com θz = 135º, onde CH e CH_3 aparecem em fase positiva e CH_2 em fase negativa.

O método analítico por CLAE, compatível com o detector de massas, foi desenvolvido com o detector PDA modelo SPD-M20A. O modo de eluição por gradiente demandou o uso de duas bombas, ambas do modelo LC-20ADXR, além do degaseificador módulo DGU-20A5R. Para controle de temperatura do forno da coluna foi utilizado o módulo CTO-20AC e as amostras ficaram sob temperatura ambiente no amostrador SIL-30AC. Foi utilizada uma coluna XSelect CSH Phenyl Hexyl (100 mm x 2,1 mm – 1,7 um). Os picos foram detectados através de detector de arranjo de diodos (DAD) à 235 nm. Na fase móvel, foi constituída de um gradiente de Ácido Acético 0,1% em água e Metanol (CHITTURI *et al.*, 2011; THE INTERNATIONAL PHARMACOPEIA, 2019).

Para o detector de massas, as condições foram: ionização por Electrospray (ESI, do inglês Electrospray Ionization) operando no modo negativo e positivo; scan de 50 a 800mz; voltagem do capilar de 4500V; fluxo de gás nebulizador 10L/min com temperatura

de aquecimento de 220ºC; e pressão de 5 bar.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na caracterização do insumo farmacêutico sATV, a primeira etapa envolveu o uso de técnicas espectroscópicas, como infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) para confirmação da estrutura molecular, seguido de análise cromatográfica para confirmação da massa molecular.

A análise do espectro de IV confirmou a presença de bandas de absorção características dos principais grupos funcionais presentes na molécula de sATV. Na região entre 1640 a 1700 cm^{-1} foram observadas bandas intensas referentes às carbonilas dos grupos amida e carbamato, além de uma sobreposição das bandas de absorção das ligações O-H e N-H, na região entre 3100 à 3500 cm´¹, referentes ao álcool e amidas, respectivamente (Figura 2). E bandas de média intensidade características das ligações C-O à 1068 cm^{-1} e C-N à 1242 cm^{-1} (Chitturi *et al.*, 2011).

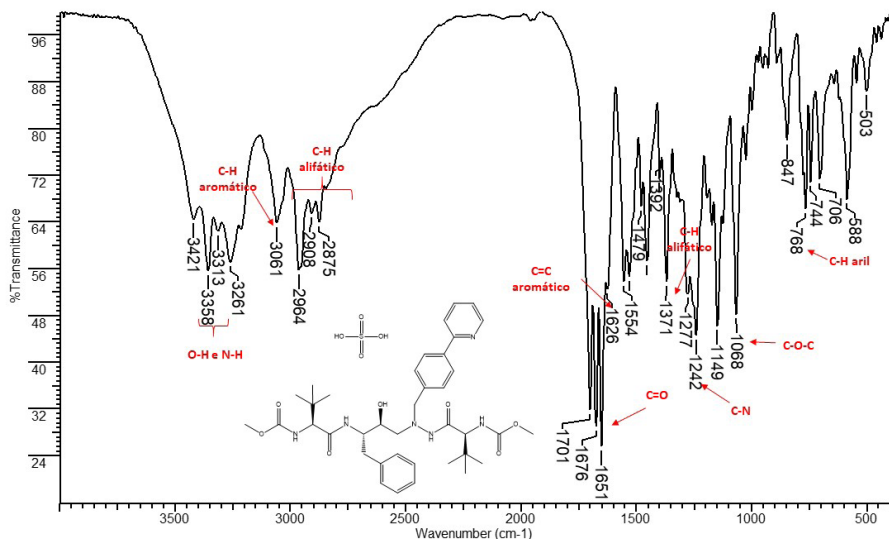



Figura 2: Espectro de absorção no IR da amostra Sulfato de Atazanavir

Fonte: Elaboração da autora (2020).

O assinalamento da molécula do Atazanavir foi realizado por meio da análise dos espectros unidimensionais (^{1}H, ^{13}C e DEPT 135) obtidos em metanol deuterado (equipamento BRUKER 500MHz) e dados da literatura (CHITTURI *et al.*, 2011).

No espectro RMN de ^{13}C da molécula de sATV podem ser observados sinais em

quatro regiões bem características. A região entre 8 e 60 ppm, referentes aos carbonos sp^3 saturados que constituem, no caso do sATV, a cadeia principal da molécula. Logo em seguida, a região entre 40 e 80 ppm, referentes aos carbonos saturados sob efeito da eletronegatividade dos heteroátomos, oxigênio e nitrogênio, dos grupos OH e NH. A terceira região representada pelos carbonos do anel aromático e heteroaromático na faixa de 120 a 155 ppm. Por fim, a região dos carbonos de carbonila que são os mais desblindados da molécula e estão entre 155 e 175 ppm. Cabe mencionar que, apesar da fórmula molecular ($C_{38}H_{54}N_6O_{11}S$) do sATV apresentar 38 átomos de carbono, somente 28 sinais foram observados no espectro RMN de ^{13}C devido à equivalência química e/ou magnética dos carbonos aromáticos e das metilas. O assinalamento dos carbonos quaternários foi obtido comparando com os sinais presentes nos RMN de^{13}C e DEPT 135 (Figura 3),

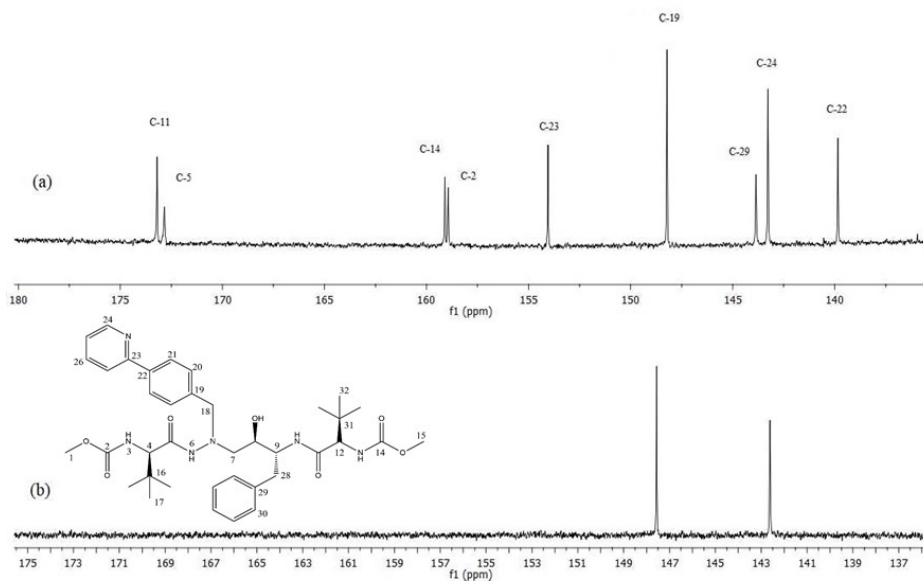



Figura 3: Comparação da região 175-135 ppm dos espectros de RMN de ^{13}C(a) e DEPT 135 (b) do Sulfato de Atazanavir.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 4) do sATV em metanol deuterado revelou a presença dos sinais característicos de hidrogênios aromáticos e heteroaromáticos entre 7,10-8,90 ppm. Além dos sinais característicos da cadeia alquílica principal, entre 2,99 a 4,23 ppm. E dos sinais das metilas em 0,84 (s,9H), 0,72 (s, 9H), 3,58(s, 3H) e 3,63 (s, 3H) ppm.

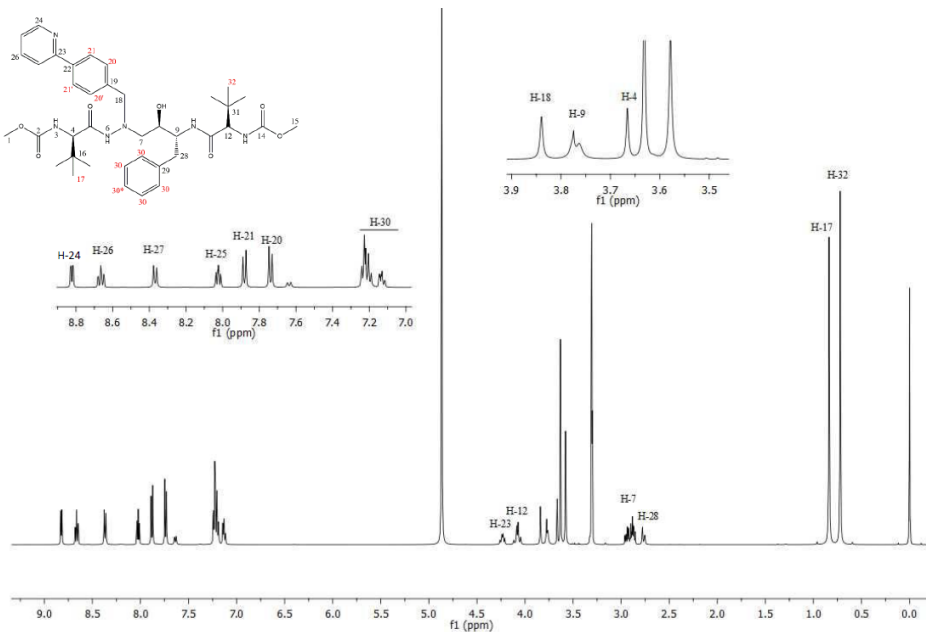



Figura 4. Espectro de RMN de ^1H do Sulfato de Atazanavir obtido em MeOD em espectrômetro Bruker de 500 MHz.

Ainda nesta etapa inicial para identificação da massa molecular visando confirmação da estrutura foi utilizado a espectrometria de massa acoplado a cromatografia liquida de alta eficiência (CLA-EM). O valor obtido referente ao íon molecular do ativo é de m/z 705, equivalente ao valor de m/z 705 demonstrado por Chitturi et al. (2011). Além do íon molecular do sATV, outros quatro picos também foram observados (m/z 144, 534, 353 e 267) (Figura 5).

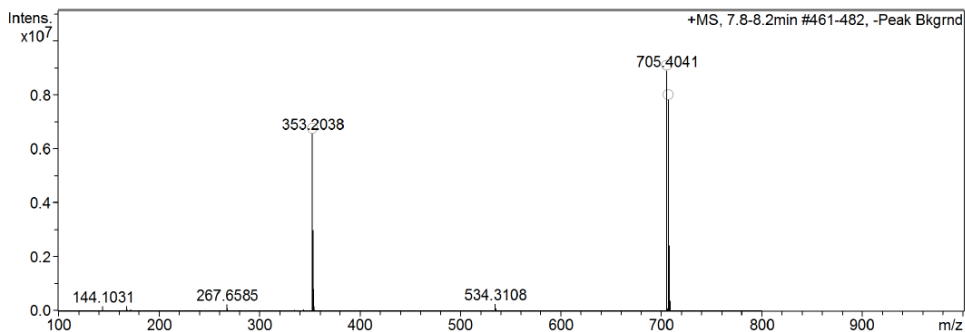



Figura 5: Espectro de massas do Sulfato de Atazanavir

Fonte: Dados da autora (2019).

A segunda etapa da caracterização envolve avaliação da pureza, identificação de polimorfismo e estabilidade, bem como decomposição térmica do sATV, utilizando técnicas termoanalíticas como a TGA, além técnicas para determinação da estrutura cristalina como a difração de raios X de pó.

A TGA é uma técnica termoanalítica que envolve a medição de massa em função da temperatura, à medida que a substância é submetida a um aquecimento programado. Portanto, pode ser utilizada na determinação de pureza e de umidade, identificação de pseudopolimorfismo, na avaliação da estabilidade de fármacos (HILFIKER, 2006).

A alta estabilidade térmica do sATV foi evidenciada por sua curva térmica, uma vez que a decomposição do IFA começou em cerca de 200°C (Figura 6). Este evento único, também, sugere a presença de forma anidra, não solvatada e apenas uma estrutura cristalina presente. A curva termogravimétrica obtida apresenta comportamento semelhante do IFA utilizado no Reyataz, relatada como forma polimórfica A.

Até o momento já foram relatadas sete formas polimórficas do sATV descritas em diferentes patentes (Ganguly; Thakumar; Drashekhar, 2011; Kim *et al.*, 2010; Reddy *et al.*, 2013; Simhadri *et al.* (2016)), as formas A, B, C, E3, H1 e P. No entanto, foram encontrados resultados de TGA na literatura somente para as formas A, C e E3 (Tabela 1), que apresentam diferentes perdas de massas em função da temperatura. (EUROPEAN PUBLIC ASSESSMENT REPORT (EPAR), 2006; KIM *et al.*, 2010).

Forma polimórfica	Caracterização
A	Perda de massa insignificante entre 100ºC e 150ºC
C	Perda de massa de 2,4% em 125ºC e 4,4% em 190ºC
E3	Perda de massa de 14,7% próximo a 100ºC
sATV	Perda de massa insignificante entre 100ºC e 150ºC

Tabela 1: Resultados de TGA para formas polimórficas de Sulfato de Atazanavir.

Fonte: Elaboração da autora baseado em Kim *et al.* (2010).

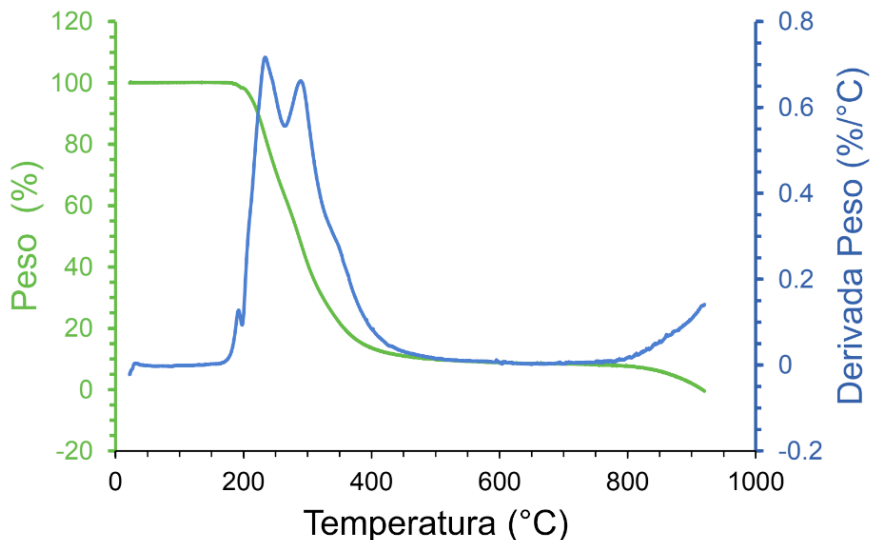



Figura 6: Curva de TGA/DTG do Sulfato de Atazanavir

Fonte: Elaboração da autora (2020).

As diferentes formas cristalinas do sATV, descritos em diferentes patentes, apresentam difratogramas característicos (GANGULY; THAKUMAR; DRASHEKHAR, 2011; KIM et al., 2010; REDDY et al., 2013; SIMHADRI et al., 2016); Singh et al. 2000).

A Tabela 2 mostra a equivalência dos valores de 2θ dos picos característicos no difratograma da amostra de sATV da BMS, com os das demais formas polimórficas encontradas na literatura. Na patente de Kim et al. (2010)são descritas as formas polimórficas C e E3, no entanto, não foi possível sua inclusão na tabela, uma vez que a patente não apresenta os valores de 2θ de seus picos característicos. Observa-se que a amostra avaliada apresenta o mesmo padrão que a forma polimórfica A (Figura 7), corroborando as informações encontradas na literatura sobre a forma polimórfica do IFA usado na produção do Reyataz (CHMP, 2019; EPAR, 2006).

Forma polimórfica	Este trabalho	Forma A	Forma B	Forma H1	Forma P
	6,0	6,2	6,1	-	-
	-	-	-	-	7,8
	9,1	9,2	-	-	-
	9,8	10,0	10,0	-	-
	-	-	-	-	11,7
	12,1	12,3	12,2	-	12,2
	13,1	13,2	13,2	-	-
	13,7	13,9	-	13,6	13,7
	-	-	-	-	14,2
	18,6	18,5	-	18,5	-
Valores de 2θ ± 0,2	-	-	-	-	19,1
	-	-	19,3	19,5	-
	-	-	-	20,1	-
	-	-	-	-	21,2
	21,4	21,6	-	-	-
	-	-	22,7	-	-
	-	-	23,8	-	-
	-	-	-	24,3	-
	24,6	24,8	-	-	-
	25,2	25,2	-	-	-
	34,1	34,2	-	-	-

Tabela 2: Valores de 2θ para as formas polimórficas de Sulfato de Atazanavir

Fonte: Elaboração da autora baseado em Ganguly; Thakumar; Drashekhar, 2011; Kim *et al.*, 2010; Reddy *et al.*, 2013; Simhadri *et al.* (2016).

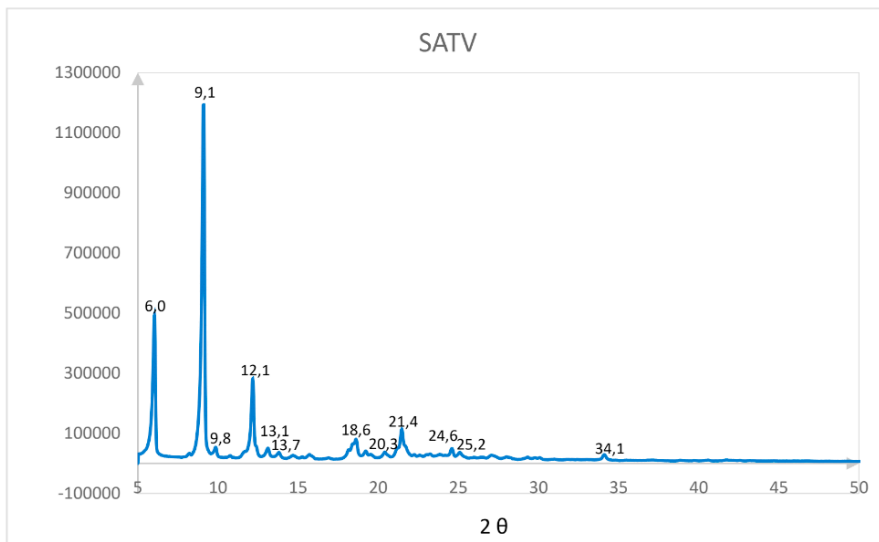



Figura 7: Difratograma do padrão de Sulfato de Atazanavir com valores de 2θ dos picos principais

Fonte: Elaboração da autora (2020).

4 I CONCLUSÃO

A caracterização do sATV forneceu informações importantes acerca da amostra avaliada que são muito úteis para o desenvolvimento farmacêutico. O espectro de infravermelho, que funciona como uma impressão digital da molécula, coincide com o reportado em literatura, confirmando assim a identidade da amostra. Com a avaliação por DRX e TGA, foi possível identificar a forma cristalina como sendo forma A não solvatada, assim como sua alta estabilidade térmica, conclusões coerentes com o descrito nos documentos da submissão do registro do Reyataz e muito relevantes, devido à inúmera quantidade de polimorfos para o insumo descritos em literatura. A identificação do íon molecular e assinalamento dos espectros de RMN veio a confirmar a estrutura química do composto. Além disso, foi também observado o padrão de fragmentação do ativo, informação que pode ser útil no estudo das impurezas de degradação potenciais.

REFERÊNCIAS

ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 301, de 21 de Agosto de 2019**Diário Oficial da União (DOU), , 2019.

BRANCH, S. K. Guidelines from the International Conference on Harmonisation (ICH). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, p. 798–805, 2005.

CHITTURI, S. R. et al. Gradient RP-HPLC method for the determination of potential impurities in atazanavir sulfate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 1, p. 31–47, 2011.

COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE (CHMP). **CHMP assessment report**. Amsterdam: [s.n.].

EUROPEAN PUBLIC ASSESSMENT REPORT (EPAR). **Scientific Discussion for the approval of Reyataz**European Medicines Agency, , 2006. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/reyataz>

FIGUEIREDO, T. A.; SCHRAMM, J. M. DE A.; PEPE, V. L. E. Seleção de medicamentos essenciais e a carga de doença no Brasil TT - Selection of essential medicines and the burden of disease in Brazil TT - Selección de medicamentos esenciales y carga de las enfermedades en Brasil. **Cad Saude Publica**, v. 30, n. 11, p. 2344–2356, 2014.

GANGULY, S.; THAKUMAR, R.; DRASHEKHAR, T. G. **World Intellectual Property Organization Patent No.: WO 2011/U27324 A1**Índia, 2011.

HILFIKER, R. **Polymorphism in the Pharmaceutical Industry**. Wiley-VCH ed. [s.l: s.n.].

ICH. **History**. Disponível em: <https://www.ich.org/page/history>. Acesso em: 5 jan. 2020.

KIM, S. et al. **United States Patent No.: US 7 829 720 B2**United Staes, 2010.

REDDY, P. et al. **United States Patent No.: US 8 552 036 B2**United Staes, 2013.

SILVEIRA, C. C. D. F. DA; CORRÊA, M. C. D. V.; BARROSO, W. B. G. Estratégia de proteção de patentes farmacêuticas: o caso do atazanavir. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**, p. 1–21, 2016.

SIMHADRI, S. et al. **United States Patent No.: US 9.382.207 B2**United States, 2016.

SINGH ET AL. **United States Patent No.: US 6 087 383**United States, 2000.

THE INTERNATIONAL PHARMACOPEIA - NINTH EDITION. **Atazanavir sulfate (Atazanaviri sulfas)** World Health Organization (WHO), , 2019.

CAPÍTULO 14

UMA REVISÃO BIBLIOMÉTRICA PARA O CASO DA PROGRAMAÇÃO DA PRODUÇÃO, DE INDÚSTRIAS QUÍMICAS, EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO EM BATELADA

Data de aceite: 01/02/2021

Rony Peterson da Rocha
Departamento de Engenharia de Produção
Universidade Tecnológica Federal – Campus de Campo Mourão

Claudilaine Caldas de Oliveira
Departamento de Engenharia de Produção
Universidade Tecnológica Federal – Campus de Campo Mourão

Eugênia Leandro Almeida
Departamento de Engenharia Química
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - PR

Mauro A.S.S. Ravagnani
Departamento de Engenharia Química
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - PR

Cid Marcos G. Andrade
Departamento de Engenharia Química
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - PR

RESUMO: A revisão bibliográfica é base de qualquer pesquisa científica. Com o intuito de buscar as principais referências bibliográficas que deverão compor o Portifólio Bibliográfico (PB) do estudo, aplicaram-se neste trabalho as duas primeiras etapas da metodologia de Revisão Bibliométrica da literatura pelo instrumento de intervenção caracterizado como *Knowledge Development Process – Constructivist* (ProKnow-C). O presente trabalho visa apresentar os resultados de um estudo teórico, aplicando está metodologia, sobre a Programação da Produção (PP) em Sistemas de Produção da Indústria Química (SPIQ), especificamente em Sistemas de Produção de Embutidos (SPEmb), baseado em uma abordagem da Programação Linear Inteira Mista (MILP) e Redes de Estados e Tarefas (STN). Verificou-se uma significante ausência de pesquisas nessa área para os SPEmb, assim como, para os processos em bateladas no tocante a utilização da rede STN em abordagens de representação de tempo discreto.

PALAVRAS-CHAVE: Estudo bibliométrico; Portifólio bibliográfico; Proknow-C; Programação da Produção; Sistemas de produção de embutidos.

ABSTRACT: The bibliographic review is the basis of any scientific research. In order to search for the main bibliographic references that will compose the Bibliographic Portfolio (PB) of the study, in this work the first two stages of the Bibliometric Review methodology of the literature were applied by the intervention instrument characterized as Knowledge Development Process - Constructivist (ProKnow -Ç). The present work aims to present the results of a theoretical study, applying this methodology, on Production Programming (PP) in Chemical Industry Production Systems (SPIQ), specifically in Embedded Production Systems (SPEmb), based on an approach of Mixed Integer Linear Programming (MILP) and State and Task Networks (STN). There was a significant lack of research in this area for SPEmb, as well as for batch processes with regard to the use of the STN network in discrete time representation

approaches.

KEYWORDS: Bibliometric study; Bibliographic portfolio; Proknow-C; Production Scheduling; Sausage production systems.

1 | INTRODUÇÃO

A revisão bibliográfica é a base que sustenta qualquer pesquisa científica. Assim, a revisão bibliográfica é indispensável para a delimitação do problema em um projeto de pesquisa e para obter uma ideia precisa sobre o estado atual dos conhecimentos sobre um tema, sobre suas lacunas e sobre a contribuição da investigação para o desenvolvimento do conhecimento.

Ao buscar um referencial teórico sobre a área de Programação da Produção em Sistema de Produção por Bateladas, para indústrias químicas, verifica-se que há uma grande quantidade de informações dispersas na literatura, levando o pesquisador a deparar-se com problemas relacionados ao tempo despendido para realização desta revisão, assim como, com o critério de escolha dos trabalhos que devem compor o Portfólio Bibliográfico (PB) da pesquisa.

Diante do conteúdo exposto, com o intuito de buscar as principais referências bibliográficas que devem compor o Portfólio Bibliográfico referente ao tema Programação da Produção em Sistemas de Produção por Bateladas, para indústrias químicas, aplicou-se neste trabalho a metodologia de Revisão Bibliométrica da literatura por meio do instrumento de intervenção caracterizado como ProKnow-C (*Knowledge Development Process - Constructivist*). O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento de um estudo bibliométrico sobre o tema "Programação da Produção em Sistemas de Produção em Batelada, para indústrias químicas, na Perspectiva da Programação Linear Inteira Mista com Modelagem Discreta do Tempo em Redes de Estados e Tarefas".

2 | METODOLOGIA

O ProKnow-C foi instituído por pesquisadores do Laboratório de Metodologias Multicritério em Apoio à Decisão (LabMCDA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), com o intuito de norteá-los no processo de seleção de bibliografias importantes e alinhadas ao tema: Avaliação de Desempenho. A primeira versão exposta e operacionalizada deste instrumento ocorreu em 2007 aos estudantes da pós-graduação em Engenharia de Produção da UFSC e em 2010 ocorreram as primeiras publicações (Marafon *et. al.*, 2012)

A primeira etapa do ProKnow-C, correspondente ao processo de seleção dos trabalhos científicos para compor o Portfólio Bibliográfico, consiste em uma etapa responsável pela identificação dos artigos científicos considerados relevantes para a temática investigada pelo pesquisador. Temos as etapas: (I). Seleção do banco de artigos brutos: (a) definição das palavras-chave; (b) definição dos bancos de dados; (c) busca de

artigos nos bancos de dados; (d) teste de aderência das palavras-chave. (II). Filtragens do banco de artigos: (a) filtro do banco de artigos brutos quanto à redundância; (b) alinhamento com o tema de pesquisa; (c) reconhecimento científico; (d) filtro quanto ao alinhamento do artigo integral. (III). Teste da representatividade do portfólio bibliográfico.

A segunda etapa do ProKnow-C, referente ao processo de bibliometria é composta segundo pelas seguintes fases: (I). Relevância dos Periódicos; (II). Reconhecimento dos artigos do portfólio bibliográfico; (III). Reconhecimento dos autores; (IV). Reconhecimento das palavras mais utilizadas nos artigos do portfólio bibliográfico.

A terceira etapa, refere-se ao processo de Análise Sistêmica, composta pela definição das lentes a partir do conhecimento sobre o tema de pesquisa.

3 | RESULTADOS DA APLICAÇÃO DO PROKNOW-C PARA REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Procedimento de Seleção de Artigos para o Portfólio Bibliográfico

Esta etapa de seleção dos principais artigos utilizados para o embasamento teórico foi dividida em três fases: seleção do banco de artigos brutos; filtragens do banco de artigos e teste da representatividade do portfólio bibliográfico.

3.1.1 Seleção do banco de artigos brutos

Primeiramente foi necessário definir as palavras chave (PC) da pesquisa por meio da delimitação dos eixos de pesquisa. Eixos de pesquisa e PC: eixo 1: Programação da Produção; eixo 2: Métodos de Otimização e eixo 3: Sistemas de Produção. Diante da definição do tema de cada eixo realizou-se uma pesquisa no *Google Scholar* (2013), com o intuito de encontrar artigos com aderência ao tema proposto. Após a leitura dos artigos selecionados definiu-se as seguintes PC: Definição dos bancos de dados (BD): portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), estar na área de conhecimento da CAPES Engenharias II, Engenharias III e Ciência da computação. As buscas foram realizadas nas seguintes bases de dados: *Compendex, Ebsco, Proquest, Science Direct, Scopus, Web of Science e Wiley.* Busca de artigos nos bancos de dados (BD): as buscas dos artigos nos bancos de dados ocorreram por meio do preenchimento dos campos de busca (título, resumo e palavras-chave), utilizando-se das palavras-chave definidas na seção “Eixo de pesquisa e PC”. Foi utilizado neste processo o *Software Endnote*, formando um banco de dados, com os arquivos importados individualmente em formato “RIS”. Deste processo resultou o banco preliminar de artigos brutos, composto por um conjunto de 1226 artigos. Teste de aderência das PC: O processo de aderência das PC consistiu na seleção de dois artigos, por meio da leitura de todos os títulos do banco de artigos bruto. Depois de selecionados os artigos, realizou-se uma análise

comparativa das PC propostas no procedimento ProKnow-C com as PC encontradas nos dois artigos, verificando se havia ou não semelhanças (caso não houvesse semelhança seria necessário incorporar outras PC). Os dois artigos selecionados a partir do banco de dados bruto são apresentados no Quadro 1.

Ao analisar as PC dispostas no Quadro 2, verificou-se que uma grande parte delas já fazia parte do conjunto de PC definidas no procedimento ProKnow-C deste trabalho.

Portanto, optou-se por restringir a busca em relação ao conjunto estrutural da modelagem matemática e da característica do processo e não em função de apenas um objetivo de desempenho.

3.1.2 Filtragens do banco de artigos

Esta segunda fase é composta pelas etapas de filtro do banco de artigos brutos quanto à redundância, alinhamento com o tema de pesquisa, reconhecimento científico e filtro quanto ao alinhamento do artigo integral, conforme descrito por Ensslin *et al*. (2010). Filtro do banco de artigos bruto quanto à redundância: para realizar a filtragem do banco de artigos das referências importadas no *Endnote*, foram criados alguns grupos correspondentes a cada banco de dados. Em cada um dos grupos foram alocadas as referências de acordo com sua origem. Após o encaminhamento de cada uma das referências nos respectivos grupos de bases de dados criados no *Endnote*, seguiu-se para a etapa de análise da redundância, isto é, a eliminação das referências repetidas. Filtro do banco de artigos bruto não repetido quanto ao alinhamento com o tema de pesquisa: a execução do filtro do banco de artigos bruto não repetido realizou-se com auxílio do *Endnote.*Filtro do banco de artigos bruto não repetido e com o título alinhado quanto ao reconhecimento científico: nesta etapa, por meio do reconhecimento científico dos artigos não repetidos selecionados quanto ao alinhamento com o tema de pesquisa, buscou-se compor um repositório de artigos. O reconhecimento científico foi definido pelo número de citações que cada artigo possuía conforme investigado na ferramenta *Google Scholar*. O número de citação de cada artigo foi ordenado de forma decrescente em uma planilha *Excel*. Nesta planilha, organizaram-se os artigos por título, número individual e soma total das citações, conforme apresentado no Quadro 2.

A partir do Quadro 2, criou-se um gráfico (Lei de Pareto) para analisar a Representatividade (R) percentual em relação ao número total de artigos conforme observado na Figura 1. A partir dos dados dispostos na Figura 1 e, conforme a metodologia sugerida pelo instrumento de intervenção ProKnow-C, foi possível dividir as referências em dois grupos, tal como ilustrado na Figura 2.

3.1.3 Teste da representatividade do portfólio bibliográfico

Com base nas informações sobre o percentual individual e acumulado das citações dos artigos, elaborou-se a Figura 3 e estabeleceu-se uma linha de corte de aproximadamente

80% da representatividade, conforme apresentado no Quadro 3.

3.1.4 Análise Bibliométrica

Nesta pesquisa, o processo de Análise Bibliométrica visa realizar, a partir da seleção do PB. Com relação a relevância dos periódicos, o número de artigos do PB contidos em cada um desses periódicos é apresentado na Figura 4, onde pode-se ver que o maior número de artigos publicados sobre a temática da pesquisa estão contidos nos periódicos "*Computers & Chemical Engineering" e "Industrial & Engineering Chemistry".*

A Figura 5 apresenta o nome de cada periódico encontrado nas referências do PB, esses Periódicos foram analisados em relação ao número de citações disponíveis em cada artigo presente no PB.

Ainda, com o propósito de estimar o grau de relevância dos periódicos do PB e conhecer quais são os de maior relevância para a temática de pesquisa, realizou-se uma análise quantitativa dos artigos do PB nos seus respectivos periódicos, fazendo-se os cruzamentos, conforme disposto na Figura 6, onde vemos que há uma predominância de publicações sobre o tema desta pesquisa nos periódicos "*Computers & Chemical Engineering*" e "*Industrial & Engineering Chemistry Research.*

Para o reconhecimento dos artigos do PB, realizou-se um levantamento no *Google Scholar* do número de citações de cada artigo selecionado no PB, tal como mostrado na Figura 7, o número total de citações dos artigos selecionados foi 1258.

As citações dos artigos do PB também foram analisadas em relação ao número das citações nas referências do PB, conforme visualizado na Figura 8.

Na Figura 9 é apresentada a relação dos autores e do número de publicações realizadas por cada um dos autores no respectivo PB. Com as informações do número de publicações no PB de cada autor dos artigos selecionados para compor o PB, passou-se para uma análise das publicações desses respectivos autores nas referências do PB, tal como apresentado na Figura 10, onde, também, mostra uma predominância do número de publicações nas referências do PB para o autor Maravelias.

Para possibilitar uma análise que relacione esses dois campos amostrais, número de artigos do autor do PB no PB e o número de artigos do autor do PB nas referencias do PB, foi elaborado a Figura 11, onde os dados apresentados mostram a importância do autor Maravelias.

Com relação ao reconhecimento das palavras mais utilizadas nos artigos PB, com relação às PC, estão apresentados no Gráfico da Figura 12.

4 I DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Fazendo uma análise geral estratificada dos artigos selecionados para o PB, verifica-se um percentual maior de artigos teórico-hipotéticos. Nenhum dos trabalhos analisados

no PB apresentou um estudo de caso, isto é, um estudo sobre a aplicação de modelos matemáticos para a PP, mais especificamente em SPEmb.

Em relação ao tipo de função objetivo implementada nos estudos: 24% a minimização do *Makespan*, 20% à maximização do lucro, 16% não informou um tipo de função, 12% à minimização do adiantamento de pedidos e minimização do custo, 8% a minimização de atrasos e 4% a maximização das vendas e minimização de inventários. Portanto, dois estudos com a mesma função objetivo pode apresentar inúmeras diferenças estruturais, tornando-os distintos.

Também foi analisado em cada artigo pesquisado o tipo de formulação do modelo, encontrou-se um total de 60% de trabalhos com a aplicação da MILP (*Mixed Integer Linear Programmin)*, 20% com a utilização tanto da MILP como da MINLP (*Mixed Integer Nonlinear Programming*), 13,3% apenas com a MIP (*Mixed Integer Programming)* e um total de 6,7% que não especificou o tipo de modelo.

Com relação a utilização de determinadas Linguagem/*Software*/*Solver*, um total de 75% dos trabalhos utilizaram o GAMS (General Algebraic Modeling System) /CPLEX (S*olver for Mixed-Integer Conic Programs*), 8,3% o GAMS/OSL (*Optimization Subroutine Library*), 8,3% o ILOG(*IBM Optimization Studio*)/CPLEX e 8,3% o AMPL (*Streamlined Modeling for Real Optimization*)/CPLEX.

5 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos trabalhos levantados e analisados, referentes a área de PP, especificamente para o problema de otimização da Programação da Produção em SPEmb, verificou-se uma grande ausência de pesquisas nessa área para os SPEmb, assim como, para os processos em bateladas no tocante a utilização da rede STN em abordagens de representação de tempo discreto.

REFERÊNCIAS

Burkard, R. E. & Hatzl, J. (2005). *Review, extensions and computational comparison of MILP formulations for scheduling of batch processes*. Computers and Chemical Engineering, Vol. 29, 1752–1769.

Cheng, B.Y., Chen, H.P. and Wangs, S.S. (2007). *Minimizing makespan for single batch-processing omachine with non-identical job sizes using a hybrid DNA evolutionary algorithm.* Information Computing and Automation.

Ensslin, L., Ensslin, S. R., Lacerda, M. R. T; Tasca, J. E. (2010). ProKnow-C,

Knowledge Development Process- Constructivist. Processo técnico com patente de registro pendente junto ao INPI. 2010

Ferrer-Nacal, S., Capón-Garcia, L., Méndez, C. A. & Puigjaner, L.(2008). *Material Transfer Operations in Batch Scheduling. A Critical Modeling Issue.* Industrial and Engineering Chemistry Research, Vol. 47(20), 7721–7732

Floudas, C. A. & Lin, X. (2004). *Continuous-time versus discrete-time approaches for scheduling of chemical processes: a review*. Computers and Chemical Engineering, Vol. 28(11), 2109–2129.

Floudas, C.A. & Lin, X. (2005). *Mixed integer linear programming in process scheduling: modeling, algorithms, and applications.* Annals of Operations Research, Vol. 139(1), 131–162.

Fumero, Y., Corsano, G. & Montagna, J. M. (2013). *A mixed integer linear programming model for simultaneous design and scheduling of flowshop plants.* Applied Mathematical Modelling, Vol. 37(4), 1652-1664.

Giménez, D. M., Henning, G. P. & Maravelia, C. T. (2009). *A novel network-based continuous-time representation for process scheduling: Part II. General framework.* Computers and Chemical Engineering, Vol. 33(10), 1644–1660.

Lim, M. F. & Karimi, I. A. (2003). *A slot-based formulation for single-stage multiproduct batch plants with multiple orders per product*. Industrial and Engineering Chemistry Research, 42(9), 1914-1924.

Marafon, A. D., Ensslin, L., Ensslin, S. R. & Lacerda R.T. (2012). *Revisão sistêmica da literatura internacional sobre avaliação de desempenho na gestão de P&D.* Revista Gestão Industrial, Vol. 8(3), 01-43.

Maravelias, C. T. (2012a). *On the combinatorial structure of discrete-time MIP formulations for chemical production scheduling.* Computers and Chemical Engineering Vol. 38, 204– 212.

Maravelias, C. T. (2012b). *General framework and modeling approach classification for chemical production scheduling.* AIChE Journal, Vol. 58(6), 1812–1828.

Maravelias, C. T. & Sung, C. (2009). *Integration of production planning and scheduling: overview, challenges and opportunities*. Computers and Chemical Engineering, Vol. 33(12), 1919–1930.

Maravelias, C.T. and Grossmann, I.E (2003). *New general continuous-time state task network formulation for short-term scheduling of multipurpose batch plants*. Vol.42(13), 3056-3074.

Méndez, C. A., Cerdá, J., Grossmann, I. E., Harjunkoski, I. & Fah, M. (2006). *State-of-the-art review of optimization methods for short-term scheduling of batch processes.* Computers and Chemical Engineering, Vol. 30(6-7), 913–946.

Prasad, P. & Maravelias, C. T. (2008). *Batch selection, assignment and sequencing in multi-stage multi-product processes.* Computers and Chemical Engineering, Vol. 32, 1106–1119.

Shaik , M. A. & Vooradi, R.(2013). *Unification of STN and RTN based models for short-term scheduling of batch plants with shared resources*. Chemical Engineering Science. Vol. 98, 104–124.

Sundaramoorthy, A. & Maravelias, C. T. (2008). *Simultaneous batching and scheduling in multistage multiproduct processes*. Industrial and Engineering Chemistry Research, Vol. 47(5), 1546–1555.

Sundaramoorthy, A.; Maravelias, C. T. & Prasad, P. (2009). *Scheduling of multistage batch processes under utility constraints.* Industrial and Engineering Chemistry Research, Vol. 48(13), 6050-6058.

Sundaramoorthy, A. & Maravelias, C. T. (2011). *Computational study of network-based mixed-integer programming approaches for chemical production scheduling.* Industrial and Engineering Chemistry Research, Vol. 50(9), 5023–5040.

Autores	Título do artigo	Palavra-Chave
Méndez et al. (2006)	State-of-the-art review of optimization methods for short-term scheduling of batch processes	Short-term scheduling; Optimization models; Batch processes; MILP.
Burkard & Hatzl (2005)	Review, extensions and computational comparison of MILP formulations for scheduling of batch processes	Scheduling problems; Batch production systems; Mathematical programming; Makespan minimization.

Quadro 1: Artigos alinhados pelo título com a temática da pesquisa

Cód.	Autores	Artigos	Periódicos	Ano	Citação	%	% Acumulada
1	Méndez, C. A., Cerdá, J., Grossmann, I. E., Harjunkoski, I. and Fah, M.	State-of-the-art review of optimization methods for short-term scheduling of batch processes	Computers and Chemical Engineering	2006	437	8%	8%
2	Floudas, C. A. and Lin, X.	Continuous-time versus discrete-time approaches for scheduling of chemical processes: a review.	Computers and Chemical Engineering	2004	366	7%	14%
3	Maravelias, C.T. and Grossmann, I.E.	New general continuous-time state task network formulation for short-term scheduling of multipurpose batch plants	Industrial & Engineering Chemistry Research	2003	211	4%	18%
...	...	...	...	...	...	...	...
282	Cheng, B.Y., Chen, H.P. and Wangs, S.S.	Minimizing makespan for single batch-processing omachine with non-identical job sizes using a hybrid DNA evolutionary algorithm	Information Computing and Automation	2007	0	8%	100%

Quadro 2: Planilha dos artigos para compor os repositórios

Autores	Artigo	Periódico	Ano
Méndez et al. (2006)	State-of-the-art review of optimization methods for short-term scheduling of batch processes	Computers & Chemical Engineering	2006
Floudas & Lin, (2004)	Continuous-time versus discrete-time approaches for scheduling of chemical processes: a review	Computers & Chemical Engineering	2004
Floudas & Lin (2005)	Mixed integer linear programming in process scheduling: Modeling, algorithms, and applications	Annals of Operations Research	2005
Prasad & Maravelias (2008)	Batch selection, assignment and sequencing in multi-stage multi-product processes	Computers & Chemical Engineering	2008
Burkard & Hatzl (2005).	Review, extensions and computational comparison of MILP formulations for scheduling of batch processes	Computers & Chemical Engineering	2005
Maravelias (2012b)	General framework and modeling approach classification for chemical production scheduling	AiChe Journal	2012
Ferrer-Nadal et al. (2008)	Material transfer operations in batch scheduling. A critical modeling issue	Industrial and Engineering Chemistry Research	2008
Lim & Karimi (2013)	A slot-based formulation for single-stage multiproduct batch plants with multiple orders per product	Industrial & Engineering Chemistry Research	2003
Sundaramoorthy & Maravelias (2011)	Computational study of network-based mixed-integer programming approaches for chemical production scheduling	Industrial and Engineering Chemistry Research	2011
Giménez *et al.* (2009)	A novel network-based continuous-time representation for process scheduling: Part II. General framework	Computers and Chemical Engineering	2009
Maravelias (2012a)	On the combinatorial structure of discrete-time MIP formulations for chemical production scheduling	Computers & Chemical Engineering	2012
Shaik & Vooradi (2013)	Unification of STN and RTN based models for short-term scheduling of batch plants with shared resources	Chemical Engineering Science	2013
Fumero et al. (2013)	A Mixed Integer Linear Programming model for simultaneous design and scheduling of flowshop plants	Applied Mathematical Modelling	2013

Quadro 3: Portfólio Bibliográfico (PB) Final

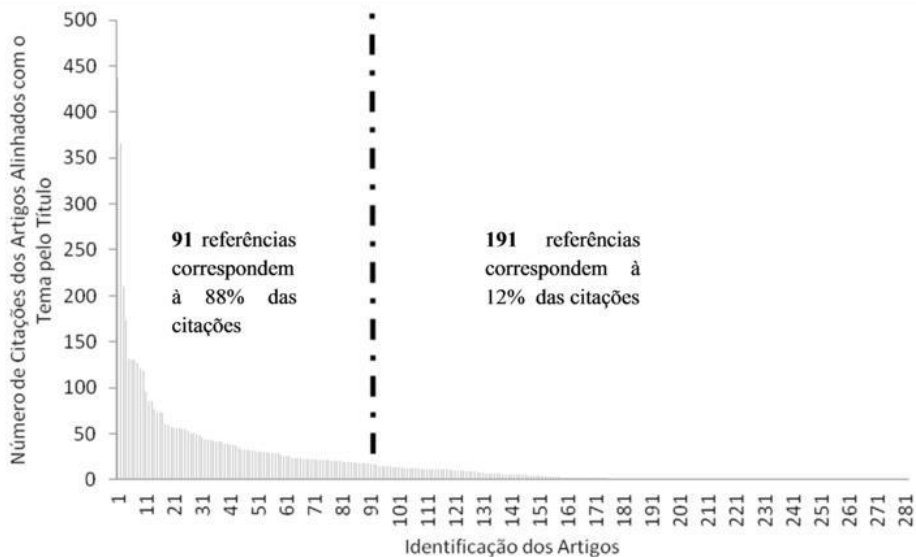



Figura 1: Análise do número de citações dos artigos com título alinhado com o tema da pesquisa.

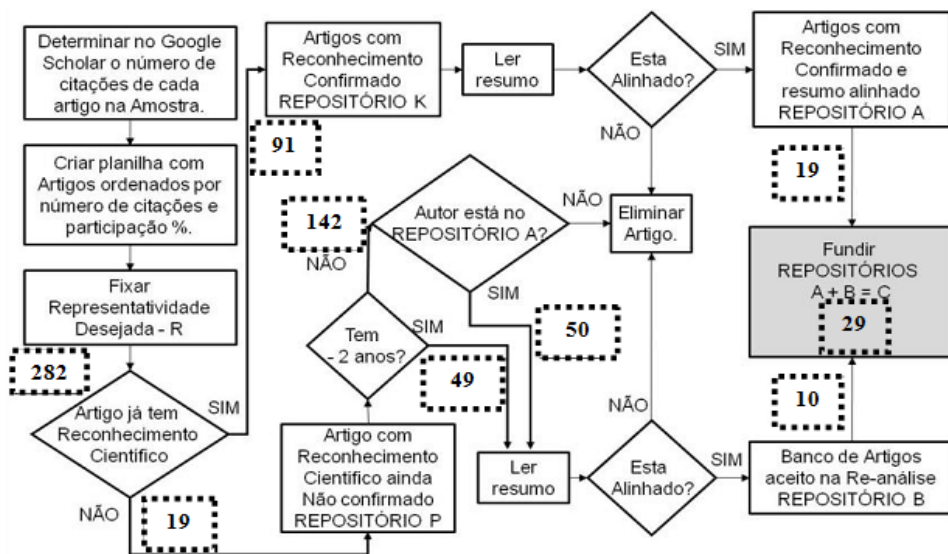



Figura 2: Filtro do banco de artigos bruto não repetido e com título alinhado quanto ao reconhecimento científico

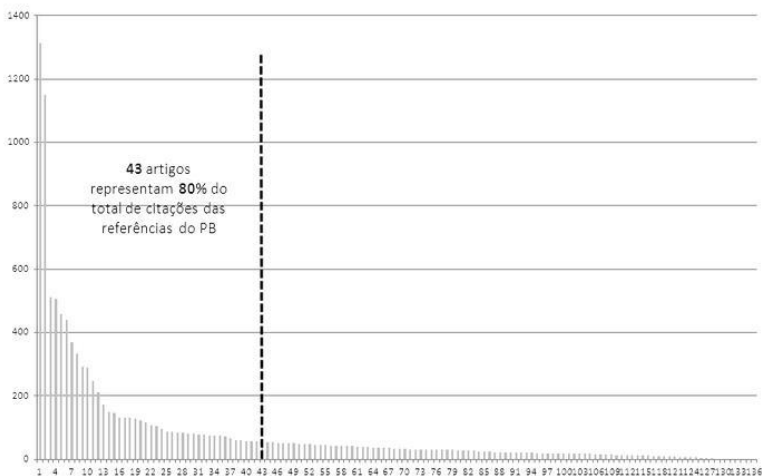



Figura 3: Análise do número de citações das referências dos artigos que estão disponíveis no PB

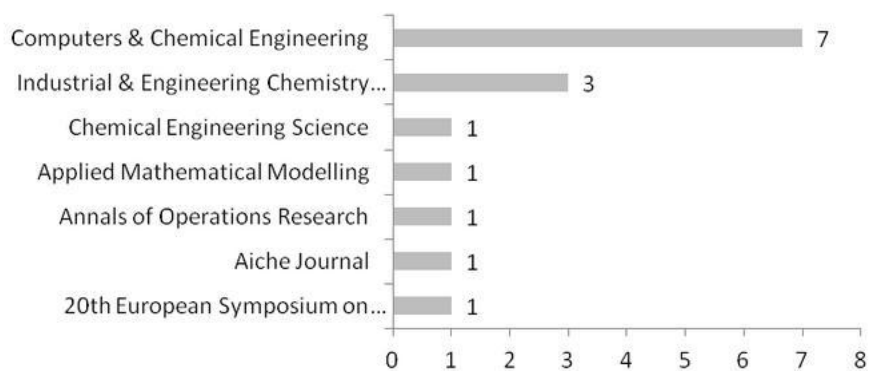



Figura 4: Número de artigos do PB por Periódico

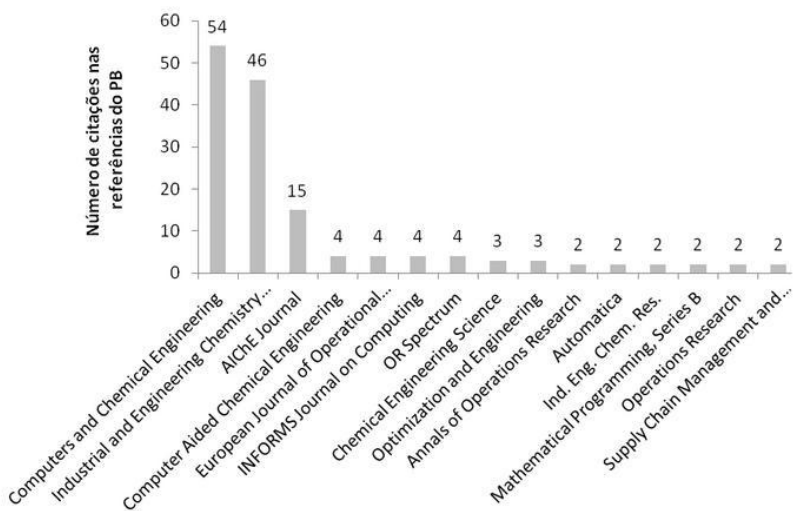



Figura 5: Número de citações de Periódicos nas referências do PB

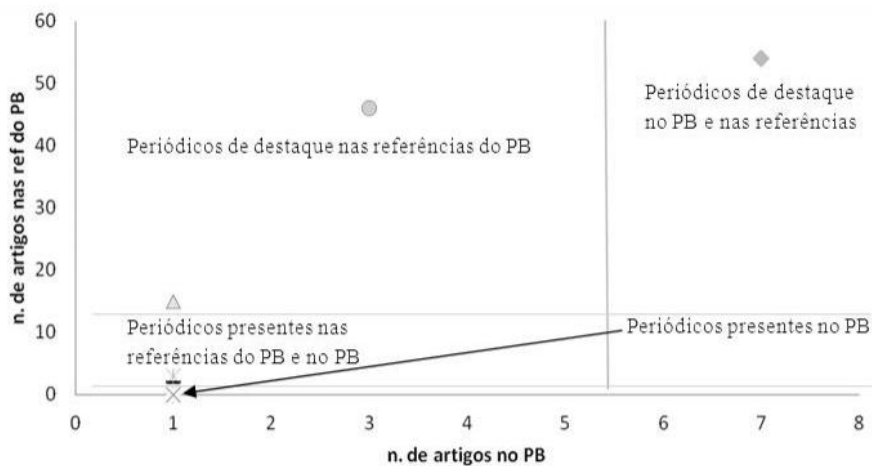



Figura 6: Relação entre artigos do PB e os das referências do PB

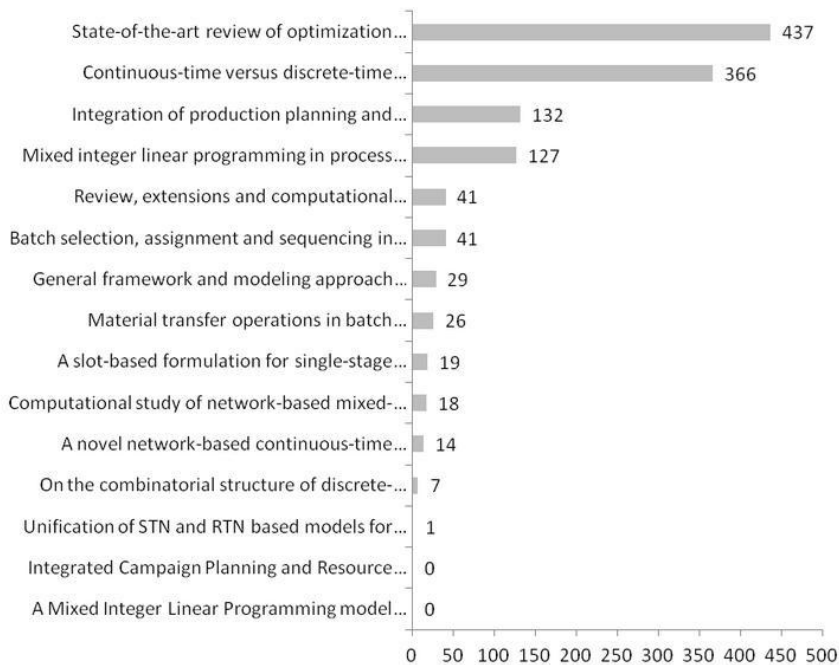



Figura 7: Número de citações dos artigos do PB

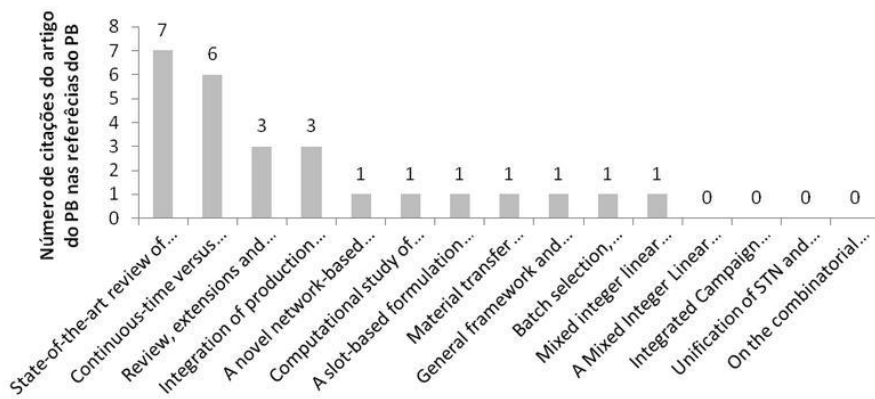



Figura 8: Relação de citações de cada artigo do PB nas referências do PB

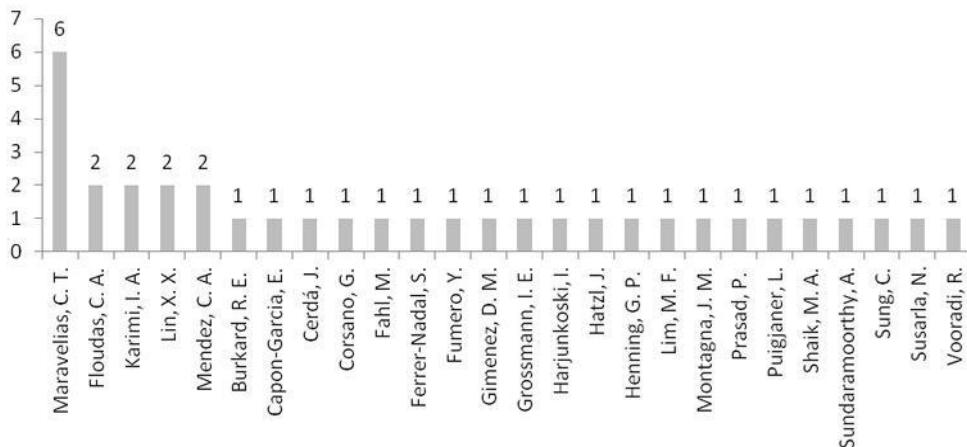



Figura 9: Nome dos autores com o número de publicações no PB

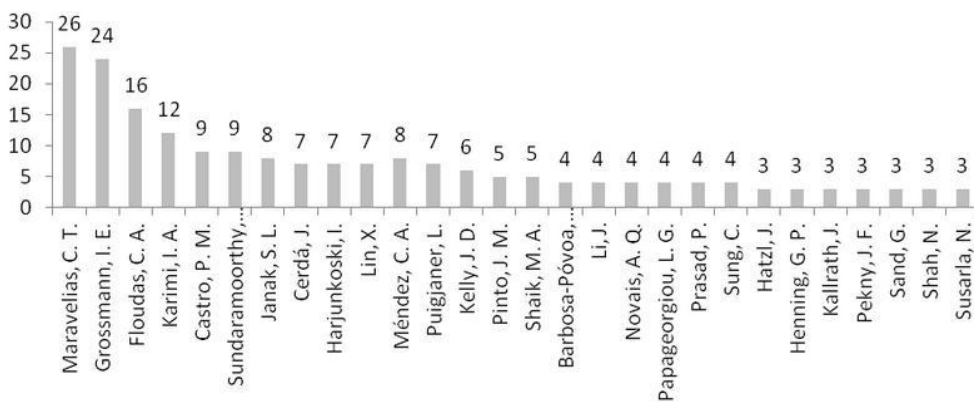



Figura 10: Nome dos autores com o número de publicações nas referências do PB

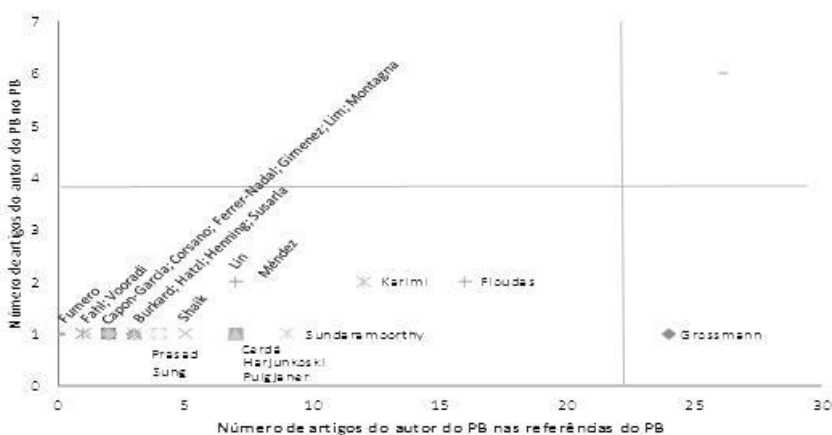



Figura 11: Relação do número de artigos do autor do PB no PB e nas referências do PB

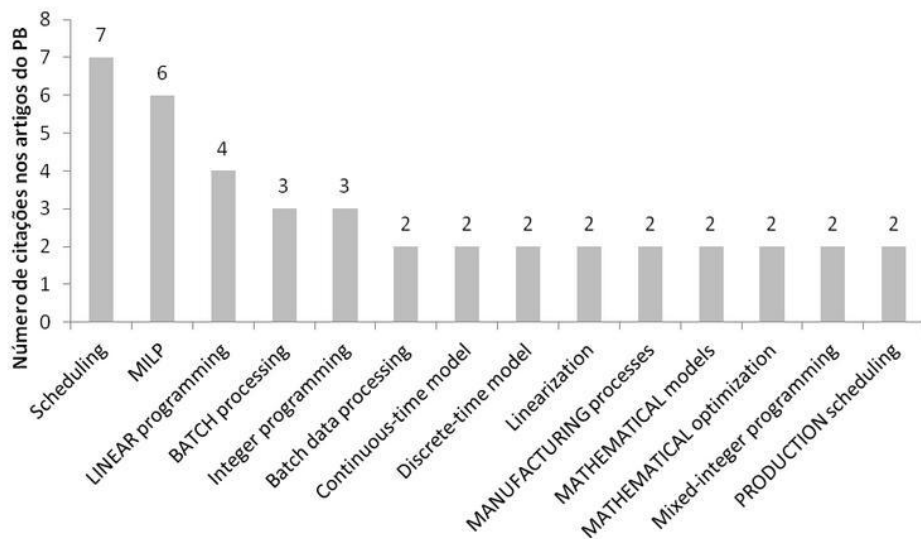



Figura 12: PC encontradas nos artigos do PB

CAPÍTULO 15

EFEITO DE PROTEÍNAS *ZINC-FINGER* EM DOENÇAS HUMANAS: UM FOCO NA CO-CHAPERONA HSP40 E DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 16/11/2020

Jemmyson Romário de Jesus
Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química
Campinas – São Paulo
http://lattes.cnpq.br/2008185157619124

RESUMO: Este trabalho apresenta importantes informações sobre as proteínas *Zinc-Finger e* o seu efeito na homeostase celular e no combate e prevenção de doenças humanas, tais como as doenças neurodegenerativas. Além disso, uma breve descrição é exibida das principais técnicas aplicadas para caracterizar a interação de zinco e proteínas *zinc-finger* em solução.
PALAVRAS-CHAVE: *Zinc-finger*, Hsp40, homeostase celular, doenças neurodegenerativas.

EFFECT OF ZINC-FINGER PROTEINS ON HUMAN DISEASES: A FOCUS ON CO-CHAPERONE HSP40 AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

ABSTRACT: This work presents important information about the Zinc-Finger proteins and their effect on cell homeostasis and in the fight and prevention of human diseases, such as neurodegenerative diseases. In addition, a brief description is showed of the main techniques applied to characterize the interaction of zinc and zinc-finger proteins in solution.
KEYWORDS: Zinc-finger, Hsp40, cellular homeostasis, neurodegenerative diseases.

1 | INTRODUÇÃO

Zinc-finger (ZF) está entre os domínios de proteína mais estudados na literatura. Ele interage com outras proteínas para facilitar uma infinidade de processos biológicos (MALGIERI et al., 2015). Atualmente, existem mais de 10 classes conhecidas de ZFs, com várias estruturas, modos de ligação de metal, funções e reatividade (KLUSKA; ADAMCZYK; KRĘŻEL, 2018). A versatilidade, seletividade e estabilidade dessas sequências de aminoácidos curtas são alcançadas principalmente por (*i*) resíduos que participam na coordenação de Zn^{2+}, principalmente Cys e His; (*ii*) núcleo hidrofóbico e formação de estrutura ZF; e (*iii*) vários resíduos responsáveis pelas interações inter e intramoleculares (KLUSKA; ADAMCZYK; KRĘŻEL, 2018). Desde a sua descoberta, ZFs tem sido extensivamente estudado em termos de sua estrutura, estabilidade e alvos de reconhecimento pela aplicação de várias metodologias (MALGIERI et al., 2015). Estudos baseados em interações com outros íons metálicos e seus complexos têm contribuído para a compreensão de suas propriedades químicas e a descoberta de novos complexos ZFs (KLUSKA; ADAMCZYK; KRĘŻEL, 2018).

Hsp40 (*heat shock protein 40*) é um importante exemplo de proteína ZF que

desempenha papel fundamental no sistema biológico (DE JESUS et al., 2019). Hsp40 auxilia no enovelamento de novas proteínas e na ressolubilização de agregados proteicos, prevenindo e combatendo o surgimento de doenças humanas, tais como doenças neurodegenerativas (RAMOS; FERREIRA, 2005). No entanto, mesmo que a literatura esteja repleta de dados sobre estruturas e estabilidade das ZFs e Hsp40, ainda há uma grande lacuna no conhecimento das propriedades físico-químicas e reatividade desse tipo de proteína. Neste trabalho, apresentamos uma breve discussão das propriedades de ligação de metal em proteínas ZFs, em especial da co-chaperona Hsp40, e os fatores de estabilidade que modulam suas funções, destacando algumas metodologias utilizadas para caracterização de ZFs e aspectos relacionados à química de coordenação. Além disso, uma breve discussão é exibida sobre a homeostase da co-chaperona Hsp40 e do metal zinco para o combate e prevenção de doenças neurodegenerativas.

2 | PROTEOSTASE

As proteínas têm diferentes funções e estão envolvidas em diferentes processos biológicos, como por exemplo, metabolismo, catálise, transporte, sinalização e outros. A atividade biológica das proteínas está diretamente relacionada com a sua estrutura tridimensional. O processo pelo qual uma proteína recém-sintetizada adquire sua estrutura terciária é denominado enovelamento proteico. O enovelamento das proteínas está codificado em sequência de aminoácidos (RAMOS; FERREIRA, 2005).

Ao longo da evolução, as células incorporam mecanismos bastante eficientes para evitar que erros na transmissão da informação genética se propaguem na replicação, na transcrição e na tradução. No entanto, ainda é possível que algumas proteínas não desempenhem suas funções, devido a erro no seu enovelamento. Além da perda de função, o enovelamento incorreto também pode levar à agregação proteica, um processo que está associado à inúmeras doenças como câncer e doenças neurodegenerativas (RAMOS; FERREIRA, 2005).

Nesse sentido, para assegurar o correto enovelamento das proteínas, existe na célula um sistema chamado de Controle de Qualidade Proteica (PQC em inglês) dedicado à manutenção da homeostase proteica, ou proteostase. Este sistema é composto pelo chaperoma (chaperonas moleculares e HSPs) envolvidas no auxílio ao enovelamento e tanto na prevenção quanto no resgate de agregados proteicos, e pelo proteossomo, o qual é responsável pela degradação de polipeptídeos. Existem inúmeras famílias de chaperonas, entre as mais importantes, destacam-se Hsp40 e Hsp70. As Hsp40s constituem uma família essencial de chaperonas moleculares que funcionam para especificar os processos celulares realizados por Hsp70 (RAMOS; FERREIRA, 2005). Diante disso, numerosos estudos demonstram que Hsp70 e Hsp40 estão associados com diferentes doenças humanas, como por exemplo, o câncer e as doenças neurodegenerativas (DE JESUS et

al., 2019; RAMOS; FERREIRA, 2005).

3 I PROTEÍNAS *ZINC-FINGER*: ESTRUTURA, CLASSIFICAÇÃO E FUNÇÃO MOLECULAR

Entre todos os cofatores inorgânicos em sistemas biológicos, o íon Zn^{2+} é o mais difundido, facilitando diversas funções de proteínas e seus complexos. Estudos de bioinformática realizados no genoma humano indicam que 10% de todas as proteínas codificadas participam da ligação do íon Zn^{2+}. Esta enorme contribuição de domínios e motivos de zinco com várias afinidades de metal encoraja os pesquisadores a investigar mais os íons Zn^{2+} e seu papel fisiológico (KLUSKA; ADAMCZYK; KRĘŻEL, 2018). É comumente conhecido que Zn^{2+} desempenha papel não apenas na atividade catalítica da enzima, mas também na estabilização da proteína, e até mesmo facilita o dobramento das subunidades da proteína. O papel estrutural do Zn^{2+} foi proposto quando o domínio ZF foi encontrado no fator de transcrição IIIA de *Xenopus laevis* (TFIIIA). A estrutura do ZF é mantida pelo íon Zn^{2+}, que coordena a cisteína e a histidina em diferentes combinações. Nas proteínas clássicas de ZF (C2H2), duas cisteínas em uma cadeia e duas histidinas em outra são coordenadas por um íon Zn^{2+}. Tipos não clássicos de ZF diferem em combinações cisteína/histidina, como C2 – H2, C2 – CH e C2 – C2. Atualmente, 30 tipos de ZFs são aprovados *pelo The HUGO Gene Nomenclature Comitê*, e a classificação ZF é baseada na estrutura de domínio de ZF. Entre as componentes de ZF com importante destaque, encontra-se a co-chapeona Hsp40. A seguir uma breve descrição dessa co-chapeona é apresentada, destacando a sua estrutura, classificação e funções molecular para a homeostase celular (KLUSKA; ADAMCZYK; KRĘŻEL, 2018).

3.1 Co-chaperona Hsp40: uma *zinc-finger* essencial

As co-chaperonas da família Hsp40 possuem vários homólogos em organismos procariontes e eucariontes. A ampla atividade que a Hsp40 desempenha em diferentes células revela que tal chaperona pode apresentar diferentes conformações, o que permite a realização de diferentes interações e funções (RAMOS; FERREIRA, 2005). Um estudo revelou uma alta abundância da proteína Hsp40 no tecido pulmonar de pacientes com câncer de pulmão, sugerindo a potencialidade dessa proteína para o diagnóstico do tumor (MITRA; SHEVDE; SAMANT, 2009).

Existem três tipos de Hsp40 que são classificados pela constituição dos domínios, são eles Hsp40 Tipo I, II e III. Todos eles compartilham o domínio J necessário para ligar a Hsp70 e ativar o seu domínio de ATP. O domínio C-terminal está presente nos tipos I e II e permite a dimerização de Hsp40. E, finalmente, o domínio central (ZF) ligado ao zinco, que está exclusivamente presente na Hsp40 do Tipo I (HENNESSY et al., 2005). A família das proteínas Hsp40 do tipo I é caracterizada pela presença de quatro domínios: (*i*) um domínio

J; (*ii*) uma região rica em Gly-Phe; (*iii*) um domínio contendo Zn; e por fim (*iv*) uma região não caracterizada denominada região do terminal carboxílico ou terminal-C (Figure 1A) (HENNESSY et al., 2005).

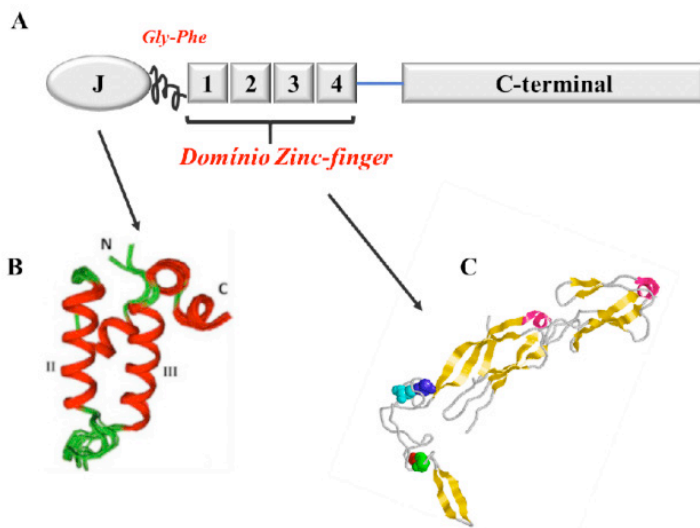



Figura 1- (A) Esquema geral dos domínios presente em Hsp40 do Tipo I: domínio J, região rica em Gly-Phe, domínio *Zinc-finger* e região do carboxílico terminal. (B) Esquema da estrutura do domínio J; (C) Esquema do domínio ligado ao átomo de Zn.

O domínio J corresponde ao terminal amino, contendo ~70 resíduos de aminoácidos e é encontrado em todas as proteínas Hsp40 (Figura 1 B). O domínio J é responsável pela regulação do ciclo hidrolítico ATP da Hsp70 (HENNESSY et al., 2005). A estrutura do domínio J demonstra que tal região é rica em hélices alfa, arranjadas em uma orientação anti-paralela. A região rica em Gly-Phe tem como função atuar como um espaçador flexível entre o domínio J e outras regiões da proteína Hsp40 (Figura 1A). Para a região denominada região C- terminal a função ainda não é bem esclarecida. O que se sabe é que a região fica adjacente à região do domínio contendo o íon Zn, e é tipicamente presente em proteínas Hsp40 que se ligam a polipeptídeos (Figura 1A). Contudo, esta é a região responsável pela dimerização (HENNESSY et al., 2005).

O domínio contendo o átomo de zinco (ZF) compreende quatro repetições ricas de cisteínas (Figura 1A e 1C) e, embora não seja clara a sua função, sugere-se que tal região desempenha um papel importante na ligação aos polipeptídeos pelos membros da família Hsp40, pois fragmentos de Hsp40 que contêm a região de zinco são capazes de suprimir a agregação de proteínas. Por exemplo, Fan et al. demonstraram que a região de domínio ligado ao Zn da Hsp40 do tipo I e o domínio J atuam sinergicamente para habilitar

o Hsp70 na captura de polipeptídeos desenovelados (FAN et al., 2005). Eles mostraram, também, que a segunda região (região II) contendo o zinco (Figura 1C) é necessário para a sobrevivência celular durante o estresse térmico. Recentemente, o mesmo grupo relatou que uma farnesilação (adicionado pela enzima proteína farnesil transferase) na região C-terminal da chaperona Hsp40 é capaz de trabalhar em cooperação com o domínio ligado ao íon Zn para reprimir a toxicidade dos príons (agentes infecciosos de estrutura anômala), adicionando, assim, outra função para este domínio (FAN et al., 2005).

3.2 Zinco e doenças neurodegenerativas

As doenças neurodegenerativas são caracterizadas por afetar os neurônios no cérebro humano(JESUS; ARRUDA, 2020a) . Entre os exemplos mais conhecidos de tal doença estão mal de Alzheimer, mal de Parkison e Huntington as quais tem como característica a formação de agregado do tipo amiloide das proteínas beta-amilóide, alfa-sinucleína e huntingtina, respectivamente (JESUS; ARRUDA, 2020a). Estas doenças são exemplos de problemas de saúde sério no mundo, sendo, por exemplo, a sexta maior causa de morte nos Estados Unidos. Estudos recentes mostram muitos exemplos de que o chaperoma possui uma função protetora contra o mal de Alzheimer. A expressão das chaperonas da família Hsp70 e Hsp27 são elevadas nas regiões cerebrais afetadas por Alzheimer e o complexo de chaperonas do retículo endoplasmático Bip/Grp78 reduzem a agregação da proteína precursora de amiloide.

Outros fatores também parecem ser importantes para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Por exemplo, estudos recentes mostraram que micronutrientes, principalmente zinco e em menor proporção cobre, parecem proteger contra agregação e sua suplementação parece diminuir os sintomas destas doenças. Conclui-se, portanto, que uma desregulação da homeostase de metais pode estar associada com a patologia destas doenças (JESUS; ARRUDA, 2020a).

Em geral, a relação entre metal e doenças neurodegenerativas envolvem a incorporação de proteínas amilóides na superfície da membrana celular, criando um canal citotóxico (JESUS; ARRUDA, 2020a). Esses canais, chamados de "canais de amilóide", são poros gigantes de vários níveis que podem facilitar o transporte de grandes quantidades de Ca^{2+}. Quatro aminoácidos (Arg, Cys, Tyr e His), que fazem parte das sequências de aminoácidos humanos, são responsáveis pela ligação aos metais. Nesse sentido, o Zn se liga aos seus resíduos, que ficam expostos ao sítio interno do poro amilóide e inibem o fluxo de Ca^{2+} regulando a homeostase celular (JESUS; ARRUDA, 2020a).

4 I ESTADO DA ARTE EM TÉCNICAS PARA A CARACTERIZAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE ZINCO E HSP40

4.1 Dicroísmo circular

O dicroísmo circular (CD) é uma técnica que é rotineiramente empregada para compreender as estruturas tri-dimensionais de proteínas (BANERJEE; MISRA; ASHRAF, 2019). O CD também é usado principalmente para estudar, em comparação com a conformação nativa, as mudanças estruturais que acompanhar a associação / dissociação de ligantes e durante o desdobramento/redobramento das biomoléculas. O CD é uma técnica não destrutiva e se baseia na interação de moléculas quirais com a luz circularmente polarizada (LCP), a qual apresenta um componente circularmente polarizado a esquerda e outro circularmente polarizado a direita. Esta interação é responsável pelo sinal de dicroísmo circular, que pode ser definido como uma diferença entre a absorção da luz circularmente polarizada à direita e à esquerda (BANERJEE; MISRA; ASHRAF, 2019). A Figura 2 mostra um esquema geral da interação da radiação polarizada com uma molécula quiral (assimétrica), descrevendo a formação de espectros de CD. De maneira geral, quando uma molécula simétrica absorve a LCP, ambos os componentes da esquerda e da direita são igualmente absorvidos e a luz emergente também é um LCP. No entanto, a molécula quiral (assimétrica) interage com a LCP, e os componentes direito e esquerdo da LCP serão absorvidos de forma desigual, e a onda resultante será polarizada elipticamente com CD, ou seja, $\Delta\varepsilon = \varepsilon_{esquerda} - \varepsilon_{direita}$. Assim, um sinal de CD pode ter valores negativos e positivos dependendo da absorção relativa dos componentes direito ($\varepsilon_{direito}$) e esquerdo ($\varepsilon_{esquerdo}$). As principais estruturas secundárias são α-hélices e β-folha. O espectro de CD para proteínas α-helicoidais é caracterizado por apresentar dois mínimos, um em aproximadamente 208 nm e outro em 222 nm. Para o espectro de proteínas com domínios ricos em folhas beta, um sinal significativo entre 210 e 220 nm é observado (BANERJEE; MISRA; ASHRAF, 2019; CORRECIRC; RAMOS, 2009).

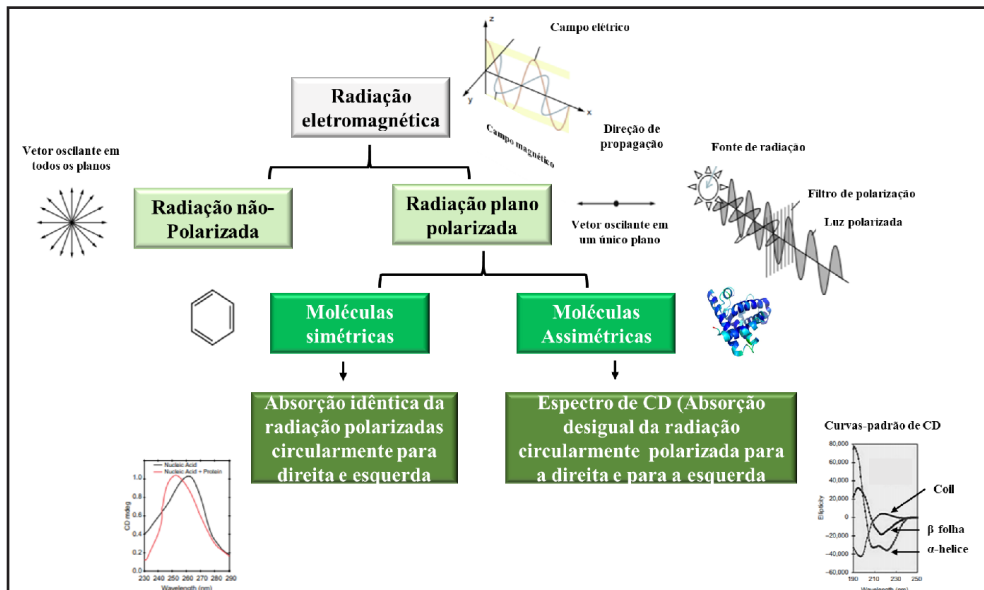



Figura 2- Resultado da interação da radiação circularmente polarizada com moléculas simétricas e assimétricas.

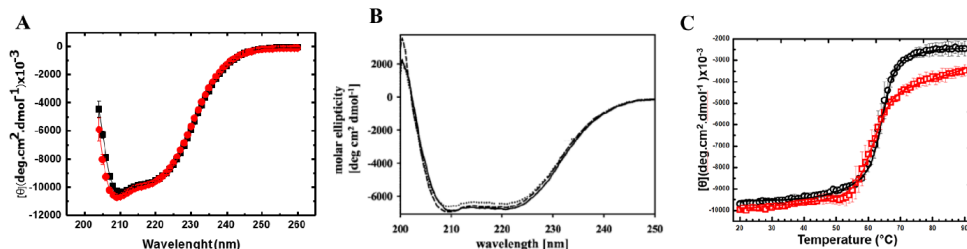



Figura 3 –Espectro de CD para caracterização da interação de (A) Zn e YdJ1, divulgado com permissão de (DE JESUS et al., 2019); e (B) Zn e DnaJ, divulgado com permissão de (DE JESUS et al., 2019). (C) Espectro da estabilidade térmica antes (preto) e após a remoção de Zn da estrutura de YdJ1, com perimissão de (LINKE et al., 2003).

Um método foi proposto para remover o íon Zn^{2+} das estruturas das proteínas Hsp40 a fim de obter informações sobre o efeito do zinco na estrutura e na função da co-chaperona Hsp40 sem precisar modificar a sua estrutura primária. Usando a técnica de CD, observou-se que nenhuma mudança significativa na estrutura secundária foi detectada para a Hsp40 de levedura (YdJ1) (Figura 3-A)(DE JESUS et al., 2019). Esses dados corroboram aqueles obtidos pelo estudo de Linke et al., que usando experimento de mutação do domínio ZF da Hsp40 humana (DnaJ), concluiu, que a remoção da região ZF também não afeta a estrutura secundária da co-chaperona (Figura 3B)(LINKE et al., 2003). A análise do perfil do espectro de CD indicou proteínas bem dobradas que são muito semelhantes à de outros homólogos

da família Hsp40. No entanto, após a avaliação da estabilidade térmica, usando CD, observou-se mudanças na temperatura de transição de YdJ1 com e sem o íon Zn (Figura 3C). YdJ1 purificada foi estável até 55 °C e desdobrou-se por meio de uma transição na qual a temperatura no ponto médio (Tm) foi de 60 ± 1 ° C (n = 3). Após o procedimento de remoção do Zn, YdJ1 mostrou um perfil induzido pelo calor semelhante, mas com um Tm igual a 63 ± 1 °C (n = 3). No entanto, o sinal de CD após a transição foi maior na amostra antes da remoção do Zn do que após, provavelmente devido à agregação. Os resultados do desdobramento induzido pelo calor indicaram que a remoção de Zn teve efeitos na estabilidade térmica de YdJ1, sugerindo que embora a ausência de Zn não afete a estrutura secundária da co-chaperona, ele tem papel essencial na estabilidade e função da Hsp40(DE JESUS et al., 2019).

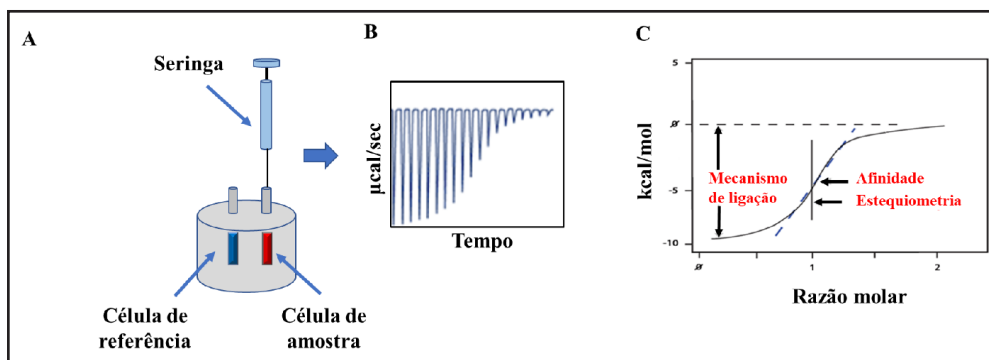



Figura 4 – (A) Esquema geral da técnica de Calorimetria de Titulação Isotémica. (B) Representação de Isotermas resultantes após titulação. (C) Dados termodinâmicos obtidos.

4.2 Calorimetria de titulação isotérmica

A calorimetria de titulação isotérmica (ITC) é outra técnica que permite caracterizar a interação entre Zn e Hsp40 (Figura 4)(WILCOX, 2008). Essa técnica se baseia na medida direta do calor que é liberado ou absorvido durante um evento de ligação biomolecular. Medir a transferência de calor durante a ligação permite a determinação precisa das constantes de ligação (KD), estequiometria de reação (n), entalpia (ΔH) e entropia (ΔS). Isso fornece um perfil termodinâmico completo da interação molecular e permite elucidar os mecanismos subjacentes às interações moleculares (WILCOX, 2008). Esta compreensão mais profunda das relações estrutura-função pode permitir uma tomada de decisão mais confiante em relação ao papel da proteína ZF no sistema biológico. De maneira geral, as medidas ocorrem por meio de comparação entre duas células que existem no calorímetro, uma delas contém água e atua como célula de referência, a outra contém a amostra (Figura 4A) (WILCOX, 2008). O calorímetro precisa manter essas duas células exatamente na

mesma temperatura. O ligante é carregado em uma seringa que fica em um dispositivo de injeção muito preciso. O dispositivo de injeção é inserido na célula de amostra contendo a proteína de interesse. Uma série de pequenas alíquotas de ligante são injetadas na solução de proteína, resultando em isotermas de ligação (Figura 4B) (WILCOX, 2008). Os dispositivos de detecção de calor detectam a diferença de temperatura entre as células quando ocorre a ligação e fornecem *feedback* para os aquecedores, que compensam essa diferença e retornam as células à mesma temperatura. Quando ocorre a ligação, o calor é absorvido ou liberado e isso é medido por um calorímetro sensível durante a titulação gradual do ligante na célula da amostra contendo a biomolécula de interesse, permitindo obter importantes parâmetros termodinâmicos, tais como estequiometria de reação, constante de ligação, entalpia e entropia (Figura 4C). de Jesus et al. utilizou a técnica de ITC para caracterizar a ligação de Zn^{2+} a YdJ1 que havia passado pelo procedimento de remoção de zinco. A Figura 5 mostra a curva do experimento de ITC. Pela Figura 5, observa-se que as isotermas de ligação resultantes se encaixam bem em um modelo de um conjunto de sítio de ligação. A reação de ligação foi exotérmica com $H_{aparente}$= -6,9 ± 0,2 kcal mol^{-1}, que é medido diretamente no ITC, e o valor $TS_{aparente}$ correspondente é de cerca de 3 kcal mol^{-1}. YdJ1 se liga ao Zn^{2+} com um $K_{Daparente}$ de 60 ± 15mM e uma estequiometria de 0,7 ± 0,1 Zn^{2+} por monômero. Nesse caso, a entalpia reflete a força da interação entre o zinco e a proteína em relação à do zinco e o solvente. Adicionalmente, os resultados também sugerem que a entropia contribui para favorecer a ligação, indicando que os resíduos de YdJ1 envolvidos na coordenação do zinco sofrem pouca ou nenhuma rigidez conformacional após a ligação (DE JESUS et al., 2019).

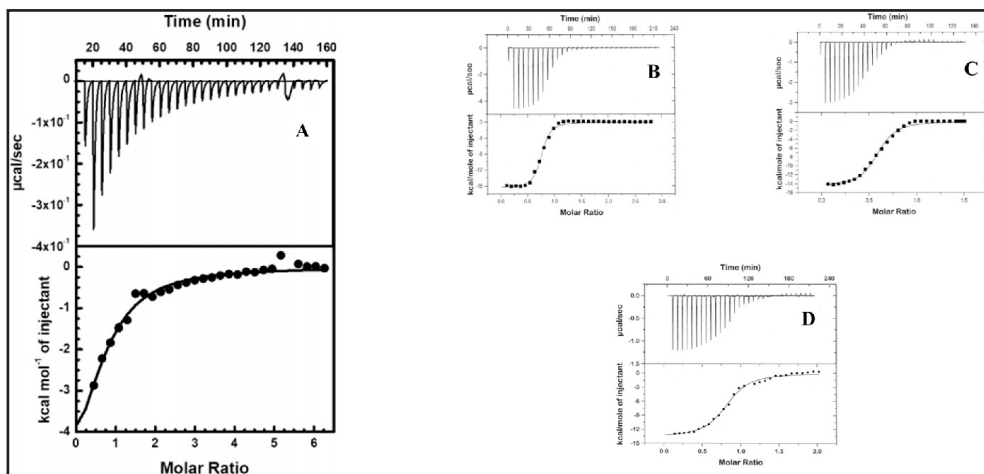



Figura 5 – Curvas de ITC para a interação de Zn com (A) YdJ1, com permissão (RICH et al., 2012).; (B) Sp1-3, (C) MyT1-2, e (D) GR-2, com permissão de (RICH et al., 2012). Copyright (2020) American Chemical Society.

Em outro estudo, Rich et al. utilizou o ITC para caracterizar a ligação do íon Zn^{2+} a três peptídeos de domínios de ZF que foram (*i*) ZF de Sp1-3, (*ii*) ZF do fator de transcrição de mielina1 (MyT1-2), e (*iii*) a segunda sequência de ligação do domínio de Zn do receptor de glicocorticóide (GR-2)(Figura 5B, 5C e 5D) (RICH et al., 2012). Como resultado, eles observaram que esses peptídeos se ligam ao Zn^{2+} pelos resíduos Cys2His2, Cys2HisCys e Cys4, respectivamente. Em relação aos parâmetros termodinâmicos, foi observado que para Sp1-3, $n_{aparente} = 0.73 \pm 0.01$, $K_{aparente} = (1.5 \pm 0.2) \times 10^6$ e $\Delta H_{aparente} = -16.5 \pm 0.2$ kcal/mol. Para MyT1-2, $n_{aparente} = 0.58 \pm 0.01$, $K_{aparente} = (7.2 \pm 0.8) \times 10^5$ e $\Delta H_{aparente} = -14.6 \pm 0.2$ kcal/mol. E, para GR-2, $n_{aparente} = 0.82 \pm 0.01$, $K_{aparente} = (1.0 \pm 0.1) \times 10^6$ e $\Delta H_{aparente} = -13.7 \pm 0.2$ kcal/mol (RICH et al., 2012).

Obviamente, embora essas observações aumentem positivamente a área de interação proteína-zinco, é necessário um trabalho mais extenso para desenvolver uma análise termodinâmica mais detalhada dessa ligação.

4.3 Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

Técnicas analíticas capazes de fornecer informações sobre a identidade e as concentrações de espécies químicas em amostras em níveis extremamente baixos (miligrama, micrograma e picograma) são altamente desejáveis (JESUS; DE ARAÚJO ANDRADE, 2020). Nesse sentido, sem dúvida alguma, a técnica de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é a estratégia mais utilizada para a determinação de metais em sistemas biológicos (JESUS; ARRUDA, 2020b). O ICP-MS é extremamente sensível, e em condições ideais, pode-se obter limites de detecção extremamente baixos (ng Kg^{-1}) de elementos traços e isótopos. Além disso, com o desenvolvimento da técnica de ionização branda por *electrospray* (ESI), a combinação de ICP-MS e técnicas de espectrometria de massas orgânica (ESI-MS/MS) tem se mostrado uma poderosa ferramenta analítica, possibilitando a quantificação simultânea e identificação estrutural de metalobiomoléculas, como por exemplo, proteínas com domínio ZF (PESSÔA et al., 2020). de Jesus et al. utilizou a técnica de ICP-MS para monitorar o efeito da remoção de Zn da estrutura e função de Hsp40. Além disso, usando ICP-MS foi confirmada a estequiometria de $<0,2$ mol de Zn por mol de um monômero de Hsp40, evidenciando a eficiência da técnica para obter dados exatos e precisos (DE JESUS et al., 2019).

5 I CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não há dúvidas de que as proteínas ZFs, em especial Hsp40, têm um papel crucial na homeostase celular e no combate e prevenção de doença humanas, tais como as doenças neurodegenerativa. Além disso, está claro que embora o cofator zinco seja importante para a estabilidade térmica e função da Hsp40, a sua ausência não afeta a estrutura secundária. É importante destacar, também o papel fundamental de técnicas robustas, tais como CD,

ITC e ICP-MS para caracterizar a estrutura e interação entre zinco e as proteínas ZF.

AGRADECIMENTOS

J.R.J agradece a Fundação de Amparo de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, 2018/00768-0) pelo suporte financeiro, e ao Laboratório de Bioquímica do Chaperoma (LaBiC) do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (IQ/UNICAMP) pela infraestrutura.

REFERÊNCIAS

BANERJEE, B.; MISRA, G.; ASHRAF, M. T**. Circular dichroism**. In: Data Processing Handbook for Complex Biological Data Sources. Elsevier, 2019. p. 21–30.

CORRECIRC, D.; RAMOS, C. **The use of circular dichroism spectroscopy to study protein folding, form and function**. African Journal of Biochemistry, v. 3, n. 5, p. 164–173, 2009.

DE JESUS, J. R. et al. **Optimization of a methodology for quantification and removal of zinc gives insights into the effect of this metal on the stability and function of the zinc-binding co-chaperone Ydj1**. Frontiers in Chemistry, v. 7, n. 7, p. 1–10, 2019.

FAN, C. Y. et al. **The type I Hsp40 zinc finger-like region is required for Hsp70 to capture non-native polypeptides from Ydj**. Journal of Biological Chemistry, v. 280, n. 1, p. 695–702, 2005.

HENNESSY, F. et al. **Not all J domains are created equal: Implications for the specificity of Hsp40-Hsp70 interactions**. Protein Science, v. 14, n. 7, p. 1697–1709, 2005.

JESUS, J. R.; ARRUDA, M. **Unravelling neurological disorders through metallomics-based approaches**. Metallomics, 2020a. DOI:10.1039/D0MT00234H.

JESUS, J. R.; ARRUDA, M. A. Z. **A feasible strategy based on high ultrasound frequency and mass spectrometry for discriminating individuals diagnosed with bipolar disorder and schizophrenia through ionomic profile**. Rapid Communications in Mass Spectrometry, n. 2, p. 1–10, 2020b.

JESUS, J. R.; DE ARAÚJO ANDRADE, T. **Understanding the relationship between viral infections and trace elements from a metallomics perspective: implications for COVID-19.** Metallomics, 2020. DOI: 10.1039/D0MT00220H.

KLUSKA, K.; ADAMCZYK, J.; KRĘŻEL, A. **Metal binding properties, stability and reactivity of zinc fingers.** Coordination Chemistry Reviews, v. 367, p-18-64, 2018.

LINKE, K. et al. **The Roles of the Two Zinc Binding Sites in DnaJ**. Journal of Biological Chemistry, v. 278, n. 45, p. 44457–44466, 2003.

MALGIERI, G. et al. **The prokaryotic zinc-finger: Structure, function and comparison with the eukaryotic counterpart.** FEBS Journal, 2015, DOI: 10.1111/febs.13503.

MITRA, A.; SHEVDE, L. A.; SAMANT, R. S. Multi-faceted role of HSP40 in cancer. **Clinical and Experimental Metastasis**, v. 26, n. 6, p. 559–567, 2009.

PESSÔA, G. D. S. et al. Metallomics-based platforms for comparing the human blood serum profiles between bipolar disorder and schizophrenia patients. Rapid Communications in Mass Spectrometry, p. 1–10, 2020.

RAMOS, C. H. I.; FERREIRA, S. T. **Protein Folding, Misfolding and Aggregation: Evolving Concepts and Conformational Diseases.** Protein and Peptide Letters. V12, n. 3, p- 213-222, 2005.

RICH, A. M. et al. Thermodynamics of Zn 2+ binding to Cys 2His 2 and Cys 2HisCys zinc fingers and a Cys 4 transcription factor site. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 25, p. 10405–10418,

WILCOX, D. E. **Isothermal titration calorimetry of metal ions binding to proteins: An overview of recent studies.** Inorganica Chimica Acta, v. 361, n. 4, p-857-867, 2008.

CAPÍTULO 16

NAFTOIMIDAZÓIS COMO POTENCIAIS COMPONENTES TERANÓSTICOS FLUORESCENTES: SÍNTESE E AVALIAÇÃO

Data de aceite: 01/02/2021
Data de submissão: 31/10/2020

Victória Laysna dos Anjos Santos
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e Biológicas
Petrolina - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/7950494299600778

Helinando Pequeno de Oliveira
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais
http://lattes.cnpq.br/5382132010377738

Arlan de Assis Gonsalves
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e Biológicas
Petrolina - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/5431415076004332

Cleônia Roberta Melo Araújo
Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e Biológicas
Petrolina - Pernambuco
http://lattes.cnpq.br/0345962384656771

RESUMO: Agentes teranósticos são sistemas que atuam simultaneamente no diagnóstico e tratamento de uma determinada doença, uma vez que são planejados para apresentar em sua estrutura agentes emissores de imagem, assim como, moléculas de ação terapêutica. Os teranósticos são constituídos por quatro componentes básicos, sendo eles: a) a molécula terapêutica; b) um ligante de direcionamento, responsável por conduzir o teranóstico até o alvo; c) um agente de imagem, que pode ser de natureza magnética, radioativa ou óptica; e d) um carreador. Dentre as estruturas químicas com elevada potencialidade para aplicação como emissor de imagem em sistemas teranósticos, destacam-se os naftoimidazóis, em razão da conjugação do heterociclo imidazólico com um anel naftalênico, resultando no incremento das propriedades fotoluminescentes dos seus derivados. Considerando a potencialidade dos naftoimidazóis como componente fluorescente de sistemas teranósticos, três compostos foram sintetizados (**IM1, IM2** e **IM3**), identificados e suas propriedades fotofísicas foram avaliadas. Os naftoimidazóis foram preparados por uma rota sintética de duas etapas reacionais, empregando o lapachol como matéria-prima. Inicialmente, a β-lapachona foi sintetizada a partir da ciclização ácida do lapachol, utilizando H_2SO_4 concentrado. Em seguida, os naftoimidazóis foram obtidos através da reação de Debus-Radziszewski empregando a β-lapachona. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna e identificados por técnicas espectroscópicas de RMN de ^{1}H e ^{13}C, e IV. Para caracterização fotofísica, foram realizados estudos de solvatocromismo (hexano, DMSO e MeOH), determinação do coeficiente de absortividade molar (ε) e o Deslocamento de Stokes (Δ_{ST}) com λ_{Abs} 345 nm. Os 1,3-naftoimidazóis apresentaram elevada intensidade de emissão de fluorescência e intermediário Δ_{ST}, demonstram a potencialidade

destes fluoróforos em serem aplicados como componentes fluorescentes para emissão de imagem em sistemas teranósticos.
PALAVRAS-CHAVE: 1,3-naftoimidazóis, Debus-Radziszewski, lapachol, β-lapachona, sondas fluorescentes.

NAPHTHOIMIDAZOLES AS FLUORESCENT THERANOSTIC COMPONENTS IN POTENTIAL: SYNTHESIS AND EVALUATION

ABSTRACT: Theranostic are systems that act simultaneously in the diagnosis and treatment of a disease, its designed with image-emitting agents in their structure, as well as molecules of therapeutic action. Theranostics are constituted of four basic components: a) a therapeutic molecule; b) a targeting ligand, responsible for guiding the theranostic to the target; c) an imaging agent, which can be of a magnetic, radioactive or optical origin; and d) a carrier. Among the structures defined with high potential for being an image emitter in theranostic, naphthoimidazoles stand out, due to the conjugation of the imidazolic heterocycle with a naphthalenic ring, in increasing the photoluminescent properties of its derivatives. Then three compounds were synthesized (**IM1**, **IM2** and **IM3**), identified and their photophysical properties evaluated. Naphthoimidazoles were prepared by a synthetic route of two reaction steps, using lapachol as a raw material. Initially, β-lapachone was synthesized from the acidic cyclization of lapachol, using concentrated H_2SO_4. Then, the naphthoimidazoles were obtained through the Debus-Radziszewski reaction using β-lapachone. The products obtained were purified by column chromatography and identified by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic techniques, and IV. For photophysical characterization, studies of solvatochromism (hexane, DMSO and MeOH), determination of the molar absorptivity coefficient (ε) and Stokes Displacement (Δ_{ST}) with λ_{Abs} 345 nm were performed. 1,3-naphthoimidazoles showed high fluorescence emission and intermediate Δ_{ST}, which demonstrate the potential of these fluorophores as fluorescent components for image emission in theranostic systems.
KEYWORDS: 1,3-naphthoimidazoles, Debus-Radziszewski, lapachol, β-lapachone, fluorescent probes.

1 I INTRODUÇÃO

A abordagem teranóstica foi introduzida por Harrell e Kopelman (2000) e consolidada em 2002, por Funkhouser em sua publicação intitulada: *Reinventing pharma: The theranostic revolution* (DREIFUSS et al., 2015), na qual o termo teranóstico foi definido como a união das modalidades de terapia e diagnóstico por imagem em um único agente. Com os avanços das técnicas de imagem molecular e da nanomedicina, observou-se também o crescente progresso da abordagem teranóstica, visando uma terapia personalizada e com maior eficácia terapêutica para as mais diversas patologias (JAIN; KUMAR; DUTTA, 2015).

Atualmente, são desenvolvidos teranósticos para as diversas patologias, como neoplasias, infecções (virais, fúngicas e parasitárias), doenças cardiovasculares e neurológicas, inflamações, como a artrite reumatoide e na regeneração tecidual (SHETTY; PRABHU; PRABHAKAR, 2019).

A dualidade funcional dos agentes teranósticos possui vantagens significativas para a nanomedicina, principalmente visando superar os problemas farmacocinéticos e de seletividade apresentados pelos agentes de terapia e diagnóstico convencionais (KELKAR; REINEKE, 2011). Além disso, os teranósticos mostram-se vantajosos por permitirem o monitoramento por imagem da progressão da patologia, assim como do perfil farmacocinético do fármaco no organismo, durante a realização do plano terapêutico (XIAO et al., 2019).

O desenho e preparo de um agente teranóstico requer esforços interdisciplinares, uma vez que implica na utilização de conhecimentos físicos, nanotecnológicos, bioquímicos e de engenharia para obtenção de uma plataforma multifuncional capaz de realizar a terapia e o diagnóstico, de forma não-invasiva, de uma condição patológica (GOLOVIN et al., 2017).

Um agente teranóstico é formado por quatro componentes básicos, sendo: i) um agente de imagem; ii) uma molécula terapêutica; iii) um ligante com o alvo; iv) um carreador (Figura 1) (JAIN; KUMAR; DUTTA, 2015).

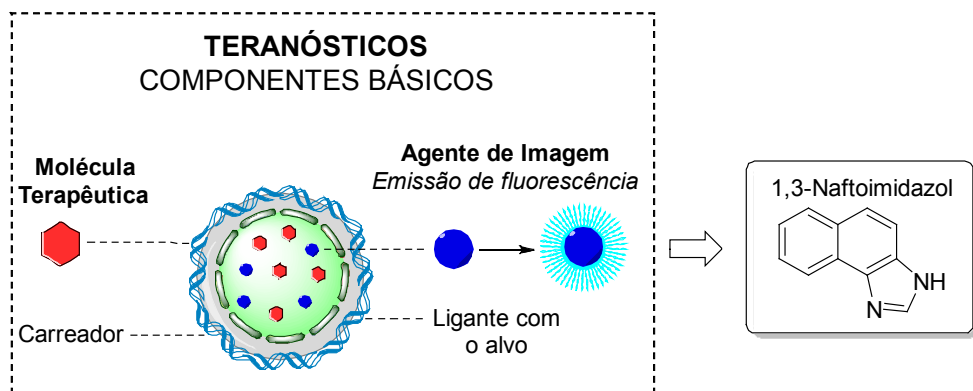



Figura 1. Representação de um sistema teranóstico básico, e do heterociclo 1,3-naftoimidazol.

O agente de diagnóstico empregado em sistemas teranósticos deve permitir a visualização dos processos celulares e subcelurares de uma condição patológica, por meio da emissão de imagem de forma não-invasiva (JANIB; MOSES; MACKAY, 2010). São exemplos desses componentes: moléculas orgânicas utilizadas como fluoróforos, óxidos metálicos, isótopos e *quantum dots* (JAIN; KUMAR; DUTTA, 2015).

Os imidazóis são caracterizados por um heterociclo de cinco membros com dois nitrogênios (HAIDER, 2017), podendo ter seu sistema aromático estendido quando substituídos nas posições 4 e 5 por um anel naftalénico, formando o núcleo naftoimidazol, por exemplo (WANG et al., 2018).

Os 1,3-naftoimidazol mostram-se como promissores componentes de sistemas teranósticos, uma vez que além de possuírem um amplo espectro de atividades biológicas, também possuem promissoras propriedades ópticas de emissão de fluorescência (CUADRADO-BERROCAL et al., 2015) (Figura 1). As propriedades ópticas que caracterizam estes heterociclos como bons fluoróforos são relacionadas, principalmente, a conjugação dos heterociclos azólicos a anéis naftalênicos, os quais proporcionam aumento significante da intensidade de fluorescência desses derivados (ESEOLA et al*.,* 2011).

Considerando as potenciais propriedades fotofísicas características dos núcleos 1,3-naftoimidazóis, bem como suas aplicações como fluoróforos em sistemas teranósticos, três compostos (**IM1**), (**IM2**) e (**IM3**) foram sintetizados, caracterizados e, em seguida, suas propriedades fluorescentes foram investigadas.

2 I PARTE EXPERIMENTAL

Para a síntese dos três naftoimidazóis, todos os reagentes empregados foram obtidos de fonte comercial e utilizados sem purificação prévia. A purificação dos produtos obtidos foi realizada empregando coluna cromatográfica (CC) contendo sílica gel 60 (70 – 230 *mesh*) e sistema de solvente acetato de etila/hexano (AcOEt/Hex) com polaridade crescente. Após a preparação e purificação todos os produtos de síntese foram armazenados sob refrigeração e ao abrigo da luz.

A elucidação estrutural dos 1,3-naftoimidazóis foi realizada empregando técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^{1}H e ^{13}C (RMN de ^{1}H e ^{13}C), incluindo as técnicas bidimensionais de correlação homonuclear, ^{1}H, ^{1}H-COSY, e heteronuclear, ^{1}H, ^{13}C (HSQC e HMBC), além do RMN de ^{13}C-DEPT 135°. Os experimentos de RMN foram registrados em um aparelho Bruker AscendTM 400, que opera a 400 MHz para o núcleo de ^{1}H e a 100 MHz para o núcleo de ^{13}C. Os descolamentos químicos (δ) foram obtidos em ppm utilizando o solvente tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Todas as amostras foram solubilizadas em solvente deuterado ($CDCl_3$ ou DMSO-d_6).

Além das técnicas de RMN, os compostos foram caracterizados por Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV), utilizando pastilhas de KBr e Espectro PerkinElmer (Modelo 10.4.00).

A caracterização fotofísica dos 1,3-naftoazóis sintetizados, foi realizada utilizando Espectrofotômetro Hach/Lange, modelo DR 5000 e Espectrofluorímetro ISS, modelo PC1. Os dados obtidos foram analisados utilizando o programa OriginPro8®.

O lapachol, material de partida para a síntese dos naftoimidazóis, foi extraído conforme Guimarães e colaboradores (2020) a partir da madeira do ipê amarelo. Após a purificação, a naftoquinona foi submetida a ciclização ácida empregando H_2SO_4 para a obtenção da β-lapachona (GUIMARÃES et al., 2020).

2.1 Síntese, caracterização e identificação dos 1,3-naftoimidazóis (IM1), (IM2) e (IM3)

Os 1,3-naftoimidazóis (**IM1**), (**IM2**) e (**IM3**) foram sintetizados empregando a metodologia descrita por Silva e colaboradores (2007), utilizando a estratégia *one pot* e o aquecimento convencional (banho de glicerina e chapa aquecedora) como fonte de energia. Em um balão de reação de 25 mL a β-lapachona (242 mg; 1 mmol) foi pesada e solubilizada em 6 mL de H_3CCOOH, seguida da adição de 2,5 mmol do aldeído empregado. A mistura reacional foi submetida ao aquecimento convencional utilizando chapa aquecedora e banho de glicerina, até atingir a temperatura de 70°C, momento no qual foi adicionado 1,27 g (16,5 mmol) de acetato de amônio ($H_3CCOONH_4$) dividido em três partes. O balão de reação foi tampado e deixado reagir a 70°C e em agitação constante, sendo a reação acompanhada por CCDA.

Quando empregado o 4-nitrobenzaldeído observou-se a precipitação do produto no meio reacional, sendo estas reações finalizadas por filtração simples e o sólido lavado com solução gelada de $NaHSO_3$ 5,0% (m/v). Para o benzaldeído e 2-nitrobenzaldeído houve precipitação dos produtos após verter a mistura reacional em 200 mL de uma solução gelada de $NaHSO_3$ 5,0% (m/v). O produto foi filtrado, lavado com 20 mL de solução de $NaHCO_3$ 5,0% (m/v), e posteriormente com água deionizada até neutralização do pH. O produto obtido foi seco a temperatura ambiente e purificado por CC, empregando sílica e sistema de solvente AcOEt/Hex.

*2.1.1 2-(fenil)-1,3-naftoimidazol (**IM1**)*

O 1,3-naftoimidazol (**IM1**) foi obtido empregando o benzaldeído e aquecimento em glicerina, com tempo reacional de uma hora. O sólido obtido foi purificado por meio de CC utilizando como sistema de solvente inicial AcEt/Hex 1:10, obtendo-se 60 mg de um sólido de coloração amarelo claro. Rendimento: 18,3%; Rf: 0,54 (1:1 AcEt/Hex); PF: 278-279°C; IV (KBr): [cm^{-1}] 3432, 3067, 2972, 2852, 2928, 1600, 1520, 1256, 1157 e 1056. RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d6): δ [ppm] 13,24 (s, 0,3H); 12,76 (s, 0,5H); 8,37 – 8,46 (m, 1H); 8,20 – 8,29 (m, 2H); 8,10 – 8,20 (m, 1H); 7,51 – 7,63 (m, 3H); 7,39 – 7,51 (m, 2H); 3,00 – 3,17(m, 2H); 1,87 – 2,06 (m, 2H); 1,43 (s, 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6): **Forma A** δ [ppm]: 147,9 (C2); 144,5 (C12); 132,2 (C4); 131,2 (C5); 130,6 (C1’); 129,1 (C4’); 128,8 (C3’/C5’); 126,0 (C2’/C6’); 125,9 (C8); 125,7 (C6) 123,4 (C9); 122,8 (C11); 122,1 (C10); 121,2 (C7); 102,4 (C17); 74,4 (C14); 31,4 (C15); 26,5 (CH_3); 18,8 (C16). **Forma B** δ [ppm]: 149,0 (C2); 143,6 (C12); 140,2 (C4); 130,8 (C1’); 129,1 (C4’); 128,8 (C3’/C5’); 126,0 (C2’/C6’); 125,7 (C8); 123,6 (C9); 123,1 (C5); 122,9 (C11); 122,3 (C10); 121,2 (C7); 120,5 (C6); 107,7 (C17); 74,1 (C14); 31,8 (C15); 26,5 (CH_3); 18,4 (C16).

2.1.2 2-(4-nitro-fenil)-1,3-naftoimidazol (**IM2**)

O 1,3-naftoimidazol (**IM2**) foi obtido empregando o 4-nitrobenzaldeído e aquecimento em glicerina, com tempo reacional de trinta minutos e precipitação do produto no meio. O sólido obtido foi purificado por meio de CC utilizando como sistema de solvente inicial AcEt/Hex 1:10, obtendo-se 183 mg de cristais vermelhos. Rendimento: 49,1%; Rf: 0,64 (1:1 AcEt/Hex); PF: 259-260 °C; IV (KBr) [cm^{-1}]: 3348, 2975, 2845, 2929, 1604, 1511, 1258, 1155 e 1057. RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] 13,61 (s, 0,3H); 13,10 (s, 0,6H); 8,36 - 8,52 (m, 5H); 8,13 - 8,22 (m, 1H); 7,56 - 7,67 (m, 1H); 2,96 - 3,16 (m, 2H); 1,90 - 2,09 (m, 2H); 1,42 e 1,44 (s, 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): **Forma A** δ [ppm] 146,8 (C4'); 146,6 (C2); 144,2 (C12); 136,6 (C1'); 133,0 (C4); 132,1 (C5); 126,6 (C2'/C6'); 126,3 (C8); 125,7 (C6); 124,3 (C9); 124,0 (C3'/C5'); 123,2 (C11); 122,3 (C10); 121,2 (C7); 102,2 (C17); 74,7 (C14); 31,3 (C15); 26,5 (CH_3); 18,7 (C16). **Forma B** δ [ppm] 147,0 (C4'); 146,6 (C2); 144,2 (C12); 140,7 (C4); 136,4 (C1'); 126,6 (C2'/C6'); 125,9 (C8); 124,4 (C9); 124,0 (C3'/C5'); 123,7 (C5); 123,2 (C11); 122,5 (C10); 121,5 (C7); 120,5 (C6); 107,5 (C17); 74,3 (C14); 31,7 (C15); 26,5 (CH_3); 18,2 (C16).

2.1.3 2-(2-nitro-fenil)-1,3-naftoimidazol (**IM3**)

O 1,3-naftoimidazol (**IM3**) foi obtido empregando o 2-nitrobenzaldeído e aquecimento em glicerina, com tempo reacional de duas horas e trinta minutos. O sólido obtido foi purificado por meio de CC utilizando como sistema de solvente inicial AcEt/Hex 1:10, obtendo-se 194 mg de um sólido amorfo de coloração vermelho tijolo. Rendimento: 52,0%; Rf: 0,33 (1:1 AcEt/Hex); PF: 139-141 °C; IV (KBr) [cm^{-1}]: 3415, 3116, 2973, 2850, 2923, 1602, 1521, 1260, 1162 e 1057. RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] 13,52 (s, 0,3H); 13,08 (s, 0,7H); 8,27 (d, 1H); 8,20 – 8,11 (m, 1H); 8,03 (t, J = 8,7 Hz, 2H); 7,83 – 7,92 (m, 1H); 7,68 – 7,77 (m, 1H); 7,53- 7,63 (m, 1H); 7,41 – 7,50 (m, 1H); 2,99 (t, J = 6,5 Hz, 2H); 1,99 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 1,43 e 1,41 (s, 6H). RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): **Forma A** δ[ppm] 148,8 (C2'); 144,7 (C2); 143,8 (C12); 132,4 (C4); 132,6 (C5'); 131,2 (C5); 130,9 (C6'); 130,3 (C4'); 126,1 (C8); 125,6 (C6); 124,6 (C1'); 124,4 (C3'); 123,7 (C9); 123,2 (C11); 122,2 (C10); 121,1 (C7); 102,2 (C17); 74,6 (C14); 31,4 (C15); 26,5 (CH_3); 18,7 (C16). **Forma B** δ [ppm] 148,8 (C2'); 145,0 (C2); 143,5 (C12); 140,2 (C4); 132,4 (C5'); 130,8 (C6'); 130,0 (C4'); 125,8 (C8); 124,6 (C1'); 124,2 (C3'); 124,1 (C9); 123,4 (C11); 122,8 (C5); 122,5 (C10); 121,2 (C7); 120,5 (C6); 107,5 (C17); 74,3 (C14); 31,6 (C15); 26,5 (CH_3); 18,2 (C16).

2.2 Estudo de Solvatocromismo

Preparou-se uma solução estoque de cada composto na concentração de 4000 $\mu mol.L^{-1}$ utilizando como solvente diclorometano (CH_2Cl_2). A partir da solução estoque foram preparadas soluções na concentração de 20 $\mu mol.L^{-1}$ de cada composto em três diferentes solventes (hexano, DMSO e metanol). Realizou-se então varredura de 190 a

800 nm, empregando espectrofotômetro de absorbância Hach / Lange, modelo DR 5000. Os espectros de cada 1,3-naftoimidazol sintetizado foram plotados utilizando o programa OriginPro8® e determinados os comprimentos de absorção máxima para cada derivado.

2.3 Determinação do espectro de emissão de fluorescência

Foram preparadas soluções estoques para cada composto na concentração de 4000 μmol.L^{-1} no solvente em que o composto apresentou melhor resolução da sua banda de absorção máxima. A partir da solução estoque foram preparadas soluções de análise na concentração de 20 μmol.L^{-1} e realizadas leituras no Espectrofluorímetro ISS, modelo PC1, no qual o comprimento de onda de excitação utilizado foi determinado como 345 nm para todas as amostras.

Os espectros de emissão obtidos para cada 1,3-naftoimidazol, foram plotados utilizando o programa OriginPro8® e calculou-se o deslocamento de Stokes de cada derivado naftoimidazólico sintetizado.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Síntese e caracterização dos 1,3-naftoimidazóis

O método de Debus-Radziszewski trata-se de uma reação multicomponente (RMC) empregada para a preparação de dois heterociclos concomitantes, o 1,3–imidazol e o 1,3–naftoxazol, a partir de um composto α-dicarbonilado, um aldeído e amônia, sob aquecimento. A síntese de imidazóis 2,4,5-trissubstituídos por meio de RMCs possui características que atraem o interesse da indústria farmacêutica, considerando que trata-se de uma reação de baixo custo e fácil execução (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2020). Para a obtenção dos 1,3-naftoimidazóis (**IM1**), (**IM2**) e (**IM3**) propostos utilizou-se a β-lapachona (**β-Lap**) como composto α-dicarbonilado. A rota sintética utilizada, foi composta por duas etapas reacionais e empregou o lapachol (**Lap**) como material de partida, Figura 2.

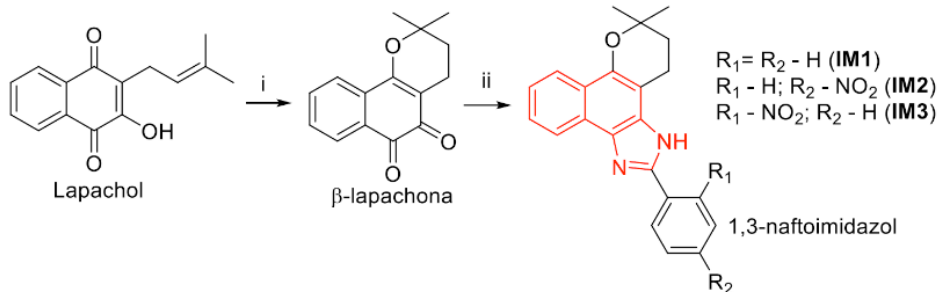
Inicialmente, o **Lap** foi obtido da madeira do ipê-amarelo, por extração ácido-base, e purificado por recristalização com rendimento de 3,0% (m/m). Posteriormente, a β-Lap foi sintetizada com 95,0% de rendimento a partir da ciclização ácida do **Lap**, empregando ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) a temperatura ambiente (GONTIJO et al., 2016).

i. H_2SO_4, t.a, R: 95,0%. ii. H_3CCOOH, aldeído, $H_3CCOONH_4$, 70 ºC, R:18,3 - 52,0%.

Figura 2. Esquema da rota sintética de preparação dos naftoimidazóis (**IM1**), (**IM2**) e (**IM3**).

Os 1,3-naftoimidazóis foram preparados através de uma reação *one pot* empregando como reagentes a **β-Lap**, o acetato de amônio como fonte de amônia (NH_3), ácido acético glacial e um aldeído aromático. Ao empregar o benzaldeído foi obtido o 2-(fenil)-1,3-naftoimidazol (**IM1**) com rendimento de 18,3%, como um sólido de coloração amarelo claro e PF 278-279 °C.

O 4-nitrobenzaldeído e o 2-nitrobenzaldeído produziram, respectivamente, o 2-(4-nitro-fenil)-1,3-naftoimidazol (**IM2**) e o 2-(2-nitro-fenil)-1,3-naftoimidazol (**IM3**). O **IM2** foi preparado com 49,1% de rendimento e obtido na forma de cristais vermelhos com PF igual a 259-260 °C. Já o **IM3** foi gerado como um sólido amorfo de coloração vermelho tijolo, PF igual a 139-141°C, e rendimento reacional de 52,0%.

Considerando que o núcleo 1,3-naftoimidazol é constituído por dois átomos de nitrogênio, um pirrolíco e outro piridínico, separados por apenas um átomo de carbono, ele é capaz de apresentar tautomerismo anelar com a formação de dois tautômeros possíveis. Denomina-se tautomerismo anelar, uma vez que, os átomos de nitrogênio e hidrogênio envolvidos no equilíbrio são pertencentes ao anel imidazol (DREW et al., 2008).

Quando substituídos na posição C2 com anéis aromáticos, os 1,3-naftoimidazóis apresentam velocidades reduzidas de tautomerização quando comparada ao naftoimidazol não substituído (NIETO et al., 2014), sendo possível detectar a ocorrência do equilíbrio tautomérico anelar nos espectros de RMN dos derivados desta classe. O tautomerismo anelar do grupo imidazol pode ser observado principalmente em análises de RMN de ^{1}H e ^{13}C através da duplicação de sinais dos carbonos e hidrogênios próximos a este núcleo, visto que, são os átomos mais afetados pela troca intramolecular do hidrogênio imidazólico nas duas formas tautoméricas possíveis.

Sendo assim, a presença dos dois tautômeros pode ser detectada em espectros de RMN ^{1}H de 1,3-naftoimidazóis não simétricos pela presença de dois sinais em campo baixo, referentes aos dois hidrogênios pirrólicos possíveis. Outra evidência da ocorrência do equilíbrio tautomérico dos 1,3-naftoimidazóis assimétricos, é a duplicação dos sinais

de seus carbonos, evidenciando a presença dos dois tautômeros possíveis (NIETO et al., 2014). Ressalta-se então, que todos os espectros de RMN ^{13}C dos três 1,3- naftoimidazóis 2-substituídos sintetizados (**IM1**-**IM3**) realizados em DMSO-d_6, evidenciaram a ocorrência do equilíbrio tautomérico característico do grupo naftoimidazol formado, através da duplicação dos sinais de seus carbonos nos espectros de RMN de ^{13}C, conforme Figura 3.

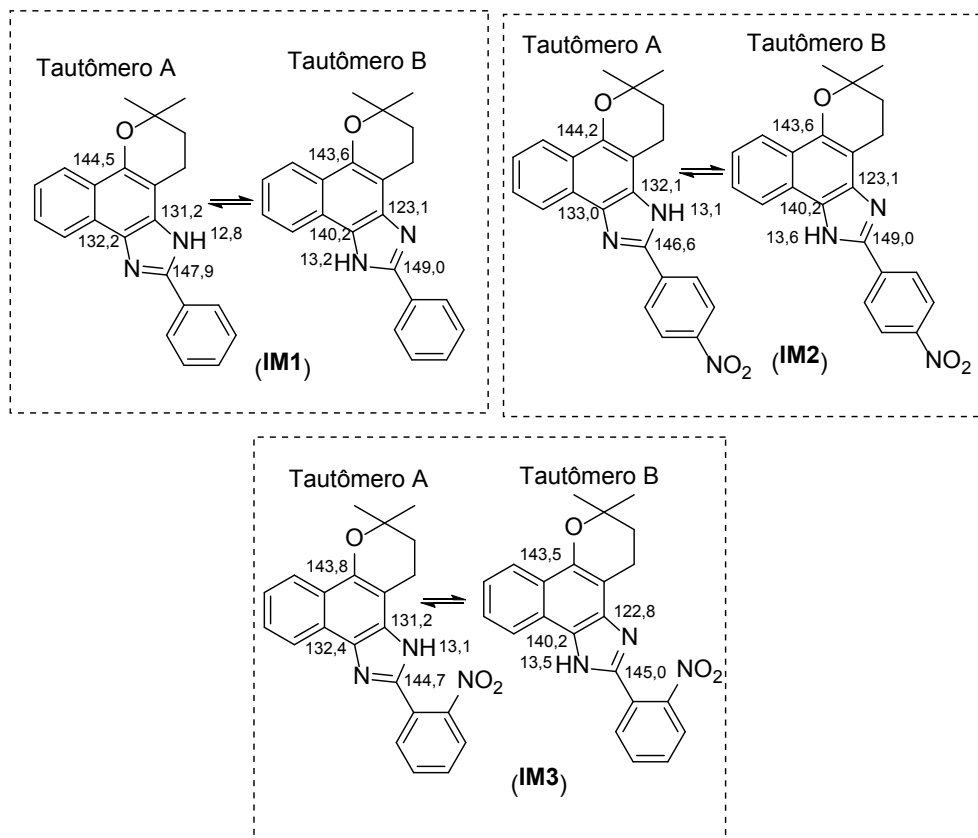



Figura 3. Estrutura molecular dos 1,3-naftoimidazóis **IM1**, **IM2** e **IM3** com d [ppm] dos principais carbonos do núcleo naftoimidazólico e dos hidrogênios imidazolícos.

3.2 Propriedades fotofísicas

3.2.1 Estudo de Solvatocromismo

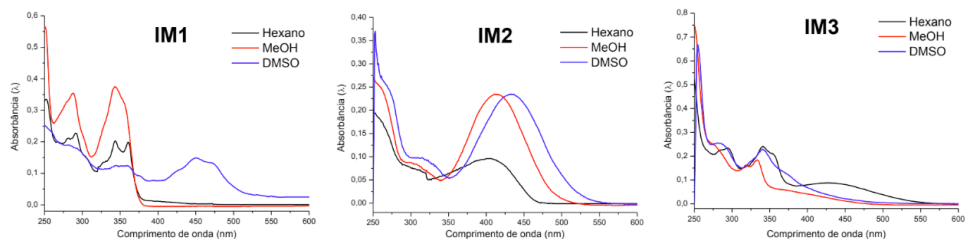
Realizou-se o estudo de solvatocromismo, afim de avaliar a influência de solventes com polaridades diferentes nas propriedades fotofísicas dos naftoimidazóis sintetizados, como demonstrado na Figura 4.

NAFTOIMIDAZOL	ESTUDO DE SOLVATOCROMISMO λ (absorbância)			εAbs (log ε) Solvente (λ nm)
	HEXANO	DMSO	MeOH	
IM1	291 (0,228) 344 (0,203)	360 (0,125) 450 (0,149)	288 (0,355) 343 (0,375)	$2{,}43.10^4$ (4,39) DMSO (342)
IM2	290 (0,083) 413 (0,234)	315 (0,098) 433 (0,235)	298 (0,088) 414 (0,234)	$1{,}85.10^4$ (4,27) MeOH (411)
IM3	294 (0,235) 341 (0,241) 427 (0,088)	281 (0,256) 341 (0,229)	249 (0,746) 333 (0,184)	$1{,}35.10^4$ (4,13) Hexano (337)

Figura 4. Estudo de solvatocromismo realizado para os 1,3-naftoimidazóis sintetizados (**IM1-IM3**) realizados na concentração de 20 $mmol.L^{-1}$.

Os espectros dos 1,3-naftoimidazóis, de modo geral, apresentaram duas bandas de absorção na região do ultravioleta. Estas correspondem à transição π □ π* do substituinte C2 (~314 nm) e do núcleo imidazol (~363 nm), como observado na Figura 4 (CHEN; HONG, 2017; NAGARAJAN et al., 2013; SOUZA et al., 2017).

No estudo de solvatocromismo, observou-se a ocorrência de deslocamento batocrômico para **IM1** e **IM2**, quando analisados em DMSO, um solvente polar e aprótico. Esse pequeno solvatocromismo positivo é tido como indicativo de uma maior estabilização do estado excitado quando comparado ao estado fundamental dos 1,3-naftoimidazóis. Este, quando promovido por solventes polares, sugere a ocorrência de uma significativa redistribuição de carga intramolecular que ocorre com a excitação molecular dos 1,3-naftoimidazóis (TANG et al., 2013).

Já para **IM3** observou-se que o aumento da polaridade do solvente promoveu um deslocamento hipsocrômico em seu espectro de absorção no UV-vis, sendo este mais acentuado quando analisado em MeOH. Este deslocamento encontra-se relacionado ao fato de o MeOH ser um solvente prótico, capaz de realizar ligações de hidrogênio com o núcleo imidazol presente nos potenciais fluoróforos (HOMOCIANU; AIRINEI; DOROHOI, 2011; NAGARAJAN et al., 2013).

Ao calcular os coeficientes de absortividade molar (Tabela X) de cada naftoimidazol, observou-se que todos os derivados sintetizados apresentaram elevados ε_{Abs}, na ordem de 10^4 $mol.L^{-1}.cm^{-1}$. Tais valores de ε_{Abs}, são condizentes com a transição permitida π □ π*

dos sistemas π-conjugados (NAGARAJAN et al., 2013), característicos do núcleo imidazol 2-substituído presente em todos os derivados (CHEN; HONG, 2017).

3.2.2 Emissão de fluorescência

Para avaliar a capacidade fluorescente dos naftoimidazóis sintetizados, e a possível aplicação desses derivados como componentes fluorescentes de agentes teranósticos, determinou-se a intensidade de fluorescência e o deslocamento de Stokes (ΔST) de cada composto. A escolha do solvente para obtenção do espectro de fluorescência, bem como para determinação do comprimento de onda de excitação foi realizada com base no estudo de solvatocromismo (Figura 5).

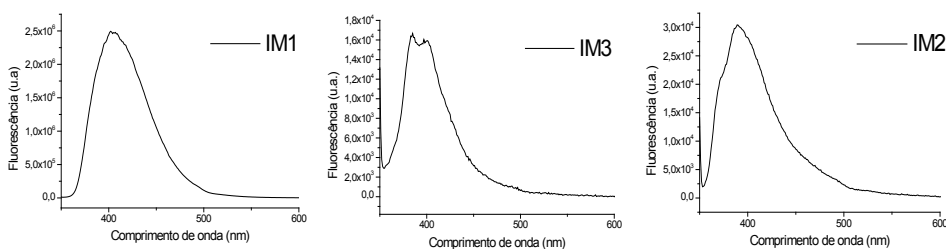



Figura 5. Espectros de emissão de fluorescência dos naftoimidazóis, obtidos utilizando λ_{Emi} 345 nm e concentração de 20 μmol.L^{-1}, sendo: a. IM1, realizado em DMSO; b. IM2, realizado em MeOH; e c. IM3, realizado em Hexano.

Dentro os naftoimidazóis sintetizados, **IM1** apresentou maior intensidade de emissão de fluorescência (2,49.10^{6} u.a), o derivado mais simples da série sintetizada, seguido de **IM2** (3,02.10^{4} u.a) e **IM3** (1,7.10^{4} u.a), que possuem um grupo nitro (-NO_2) em suas estruturas. A presença do grupo -NO_2 substituinte na posição *para* (**IM2**) e *orto* (**IM3**), promoveu uma diminuição na emissão de fluorescência desses dois derivados naftoazólicos. Tal fato, se deve a natureza do grupo -NO_2 substituinte, que trata-se de um grupo retirador de elétrons, afetando a distribuição eletrônica do sistema de ligações π conjugadas dos derivados que o contem (CARAYON; FERY-FORGUES, 2017).

3.2.3 Deslocamento de Stokes

Além de exibir a maior intensidade de fluorescência, o naftoimidazol **IM1** também apresentou o deslocamento de Stokes mais largo dentre os derivados sintetizados, com comprimento de onda de máxima emissão em 402 nm e com ΔST igual a 57 nm. Os naftoimidazóis NO_2-substituídos, **IM2** e **IM3**, apresentaram ΔST igual a 46 (λ_{Emi} 391 nm) e 40 nm (λ_{Emi} 385 nm)., respectivamente, sendo estes mais curtos que o apresentado por IM1, o derivado mais simples dentre os 1,3-naftoimidazóis sintetizados.

Os ΔST apresentados por cada 1,3-naftoimidazol sintetizado, mostraram-se moderados (40-57 nm), sugerindo a necessidade de avaliação de outros parâmetros fotofísicos que corroborem com a aplicação desses compostos como agentes emissores de fluorescência para detecção de biomoléculas.

4 I CONCLUSÃO

Os 1,3-naftoimidazóis **IM1**, **IM2** e **IM3** foram preparados a partir do lapachol através de uma rota sintética de duas etapas. A elevada intensidade de emissão de fluorescência, assim como o intermediário deslocamento de Stokes apresentados pelos naftoimidazóis sintetizados, demonstram a potencialidade destes fluoróforos em serem aplicados como componentes fluorescentes para emissão de imagem em sistemas teranósticos.

REFERÊNCIAS

CARAYON, C.; FERY-FORGUES, S. 2-Phenylbenzoxazole derivatives: a family of robust emitters of solid-state fluorescence. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 16, n. 7, p. 1020-1035, 2017.

CHEN, S-W; HONG, F-E. Palladium-catalyzed C-H functionalization of amido-substitued 1, 4-napthoquinone in the presence of amines toward the formation of pyrroles and imidazoles. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 31, p. 10232-10238, 2017.

CUADRADO-BERROCAL, I. et al. Biological evaluation of angular disubstituted naphthoimidazoles as anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 19, p. 4210-4213, 2015.

DREIFUSS, T. et al. A challenge for theranostics: is the optimal particle for therapy also optimal for diagnostics?. **Nanoscale**, v. 7, n. 37, p. 15175-15184, 2015.

DREW, M. G. B. et al. Solid state annular tautomerism in a molecule containing two imidazole moieties. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 38, n. 7, p. 507-512, 2008.

ESEOLA, A. O. et al**.** Luminescent properties of some imidazole and oxazole based heterocycles: synthesis, structure and substituent effects. **Dyes and Pigments**, v.88, n.3, p.262-273, 2011.

FUNKHOUSER, J. Reinventing Pharma: The Theranostic Revolution. **Curr. Drug Discovery**, v. 2, p. 17–19, 2002.

GOLOVIN, Y. I. et al. Theranostic multimodal potential of magnetic nanoparticles actuated by non-heating low frequency magnetic field in the new-generation nanomedicine. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 19, n. 2, p. 63, 2017.

GONTIJO, T. B. et al. Novel fluorescent lapachone-based BODIPY: synthesis, computational and electrochemical aspects, and subcellular localisation of a potent antitumour hybrid quinone. **Chemical Communications**, v. 52, n. 90, p. 13281-13284, 2016.

GUIMARÃES, D. G. et al. Naphthoquinone-based Hydrazone Hybrids: Synthesis and Potent Activity Against Cancer Cell Lines. ***Medicinal Chemistry***, v. 16, 2020. Doi:10.2174/1573406416666200817164308

HAIDER S. Heterocycles, back bone of drug design. **Journal of Phytochemistry & Biochemistry**, v. 1, n.1, 2017.

HOMOCIANU, M.; AIRINEI, A.; DOROHOI, D. O. Solvent effects on the electronic absorption and fluorescence spectra. **Journal of Advanced Research in Physics**, v. 2, n. 1, 2011.

JAIN, T.; KUMAR, S.; DUTTA, P. K. Theranostics: a way of modern medical diagnostics and the role of chitosan. **Journal of Molecular and Genetic Medicine**, v. 9, n. 159, p. 1747-0862.1000159, 2015.

JANIB, S. M.; MOSES, A. S.; MACKAY, J. A. Imaging and drug delivery using theranostic nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 11, p. 1052-1063, 2010.

KELKAR, S. S.; REINEKE, T. M. Theranostics: combining imaging and therapy. **Bioconjugate chemistry**, v. 22, n. 10, p. 1879-1903, 2011.

NAGARAJAN, N. et al. Bioimaging, antibacterial and antifungal properties of imidazole-pyridine fluorophores: Synthesis, characterization and solvatochromism. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 127, p. 212-222, 2013.

NIETO, C. I. et al. An experimental and theoretical NMR study of NH-benzimidazoles in solution and in the solid state: proton transfer and tautomerism. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 10, p. 1620, 2014.

SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M. Resgate da Reação de Debus-Radziszewski: Ensino Prático de Reações Multicomponentes na Síntese da Lofina. **Química Nova**, v.43, n.9, p.1344-1349, 2020.

SHETTY, Y.; PRABHU, P.; PRABHAKAR, B. Emerging vistas in theranostic medicine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 558, p. 29-42, 2019.

SILVA, A. M. et al. Synthesis and biological evaluation of N-alkyl naphthoimidazoles derived from **β**-lapachone against Trypanosoma cruzi bloodstream trypomastigotes. **Medicinal Chemical Communication**, v. 8, n. 5, p. 952-959, 2017.

SOUZA, V. P. et al. Synthesis and photophysical study of new fluorescent proton transfer dihydropyrimidinone hybrids as potential candidates for molecular probes. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 24, p. 15305-15311, 2017.

TANG, C. et al. Synthesis, crystal structures, two-photon absorption and biological imaging application of two novel bent-shaped pyrimidine derivatives. **Dyes and Pigments**, v. 99, n. 1, p. 20-28, 2013.

WANG, Z-Y. et al. Novel phenanthroimidazole-based blue AIEgens: reversible mechanochromism, bipolar transporting properties, and electroluminescence. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 11, p. 8924-8932, 2018.

XIAO, S et al. Nanomedicine–advantages for their use in rheumatoid arthritis theranostics. **Journal of Controlled Release**, v. 316, p. 302-316, 2019.

SOBRE O ORGANIZADOR

CLEISEANO EMANUEL DA SILVA PANIAGUA - Técnico em química pelo Colégio Profissional de Uberlândia (2008), Bacharel em Química ela Universidade Federal de Uberlândia (2010), Licenciado em Química pela Universidade de Uberaba (2011). Especialista em Metodologia do Ensino de Química e em Docência do Ensino Superior pela Faculdade JK Serrana em Brasília (2012). Mestre em Química pela Universidade Federal de Uberlândia (2015), com ênfase em desenvolvimento de um bioadsorvente para remoção dos íons metálicos As(V), Sb (III) e Se (IV) em diferentes matrizes aquáticas. Doutor em Química pela Universidade Federal de Uberlândia (2018), com ênfase em Processos Oxidativos Avançados [fotocatálise heterogênea (TiO_2/UV-A e TiO_2/Solar, H_2O_2/UV-C) para remoção de contaminantes de interesse emergente (CIE) em diferentes matrizes aquáticas. Atualmente realiza P**ós-**doutorado na Universidade Federal de Uberlândia com ênfase em aplicação de novos agentes oxidantes empregando radiação solar para remoção de CIE em efluentes provenientes de estação de tratamento de esgoto. Possui 11 anos de experiência como **técnico em química** no Instituto Federal de Goiás, tendo atuado como responsável por análises de parâmetros físico-químicos e biológicos de águas e efluentes provenientes de estação de tratamento de esgoto. Atualmente, vem atuando nas seguintes linhas de pesquisa: (*i*) Desenvolvimento de novas metodologias para tratamento e recuperação de resíduos químicos gerados em laboratórios de instituições de ensino e pesquisa; (*ii*) Estudos de monitoramento de CIE; *(iii*) Desenvolvimento de novas tecnologias avançadas para remoção de CIE em diferentes matrizes aquáticas; (*iv*) Aplicação de processos oxidativos avançados (H_2O_2/UV-C, TiO_2/UV-A e foto-Fenton e outros) para remoção de CIE em efluentes provenientes de estação de tratamento de esgoto para fins de reutilização; (*v*) Estudo e desenvolvimento de novos bioadsorventes para remediação ambiental de CIE em diferentes matrizes aquáticas e (*vi*) Educação Ambiental.

ÍNDICE REMISSIVO

A

B

C

D

E

F

H

I

M

N

Ano 2021

Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Trabalhos nas Áreas de Fronteira da Química

Ano 2021

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br